

Société Ouest-Africaine de Chimie S.O.A.CHIM

Bénin, Burkina Faso, Côte d'Ivoire, Guinée (Conakry), Mali, Niger, Sénégal, Togo

Reconnue par récépissé n°96.008/MAT/SG/DGAT/DLPJ du 17.01.1996



Bénin



Burkina Faso



Côte d'Ivoire



Guinée (Conakry)



Mali



Niger



Sénégal



Togo



SOACHIM 2022



Tél./Fax (226) 25 30 39 67
E-mail : soachimsp1994@yahoo.fr
site : www.soachim.info

UNIVERSITE JOSEPH KI-ZERBO



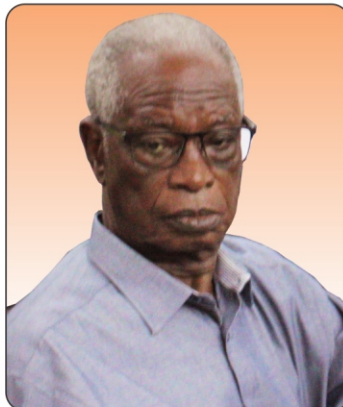
03 BP 7021 Ouagadougou 03 – Burkina Faso
Tel : +226 25307064/65
E-mail : contact@ujkz.bf, site web : <http://www.ujkz.bf>

22^e Journées Scientifiques Annuelles de la SOACHIM 08 – 12 Août 2022, Ouagadougou – Burkina Faso

Thème Général : « **Chimie fondamentale et appliquée
face aux pandémies en Afrique** »

Document de travail : Résumés des conférences plénières,
Résumés des communications orales

Hommage au
Pr. Faustin Sié SIB



*Professeur Titulaire en Chimie
organique, structure et réactivité,
Université de Ouagadougou ;
Membre Fondateur de la SOACHIM*

- Sous le Haut Patronage de son Excellence Monsieur Aboubacar TOGUYENI, Président de l'Assemblée Nationale de Transition du Burkina Faso
- Sous le patronage de Monsieur le Ministre de l'Enseignement Supérieur, de la Recherche et de l'innovation
- Sous le parrainage de Monsieur Alassane KANAZOE, PDG de CIM METAL SA, Burkina Faso

Société Ouest Africaine de Chimie S.O.A.CHIM

Bénin, Burkina Faso, Côte d'Ivoire, Guinée (Conakry), Mali, Niger, Sénégal, Togo

Reconnue par récépissé n°96.008/MAT/SG/DGAT/DLPJ du 17.01.1996

Soachim 2022



Tél./Fax (226) 25 30 39 67
Email : soachimsp1994@yahoo.fr
site : www.soachim.org

Université Joseph KI-ZERBO



03 BP 7021 Ouagadougou 03 – Burkina Faso
Tel : +226 25307064/65
Mél : contact@ujkz.bf, site web : <http://www.ujkz.bf>

22^{èmes} Journées Scientifiques Annuelles de la Soachim 08 – 12 Août 2022, Ouagadougou – Burkina Faso

COMITE D'ORGANISATION

Président : Eloi PALE
Vice - Président : Tambi RAMDE

Membres:

- Karifa BAYO
- Souleymane KOLOGO
- Lassané TARPAGA
- Lamine ZERBO
- Stéphanie B. MAIGA/YALEU
- Corneille BAKOUAN
- Moumouni KOALA
- Rémy BATIONO
- Mahamadi OUEDRAOGO
- Yacouba SANOU
- Jean Pierre OUATTARA
- Mabinty BAYO/BANGOURA
- Younoussa MILLOGO
- Brahim SORGHO
- Delphine HEMA

-Commission secrétariat :

- Claire Somda
- Mohamed Seynou
- Moustapha SAWADOGO
- Ignace SAWADOGO
- Svitlana L. NITIEMA/YEFANOVA

Société Ouest Africaine de Chimie S.O.A.CHIM

Bénin, Burkina Faso, Côte d'Ivoire, Guinée (Conakry), Mali, Niger, Sénégal, Togo

Reconnue par récépissé n°96.008/MAT/SG/DGAT/DLPJ du 17.01.1996

Soachim 2022



Tél./Fax (226) 25 30 39 67
Email : soachimsp1994@yahoo.fr
site : www.soachim.org

Université Joseph KI-ZERBO



03 BP 7021 Ouagadougou 03 – Burkina Faso
Tel : +226 25307064/65

Mél : contact@ujkz.bf, site web : <http://www.ujkz.bf>

22^{èmes} Journées Scientifiques Annuelles de la Soachim 08 – 12 Août 2022, Ouagadougou – Burkina Faso

COMITE SCIENTIFIQUE

Président: Valentin WOTTO

Vice-Présidente: Nah TRAORE

Membres: Guy ATOHOUN, Jacques FATOMBI K., Waris CHOUTI, Wilfride KANHOUNNON, Guévara NONVIHO, Mousbahou MALAN ALMA, Eloi PALE, Gnon BABA, Gustave BEDI, Sadio A. DIALLO, Lassine SIDIBE, Mamane ALMOU, ZIAO Nahossé, Véronique MAMBO, Benjamin YAO, Yaya SORO, BEDE Lucie, OUSSOU Kouamé, Yvette FOFIE, Bernadette Bilé AVO, Nah TRAORE, Amadou MAIGA, Adama TOLOFOUDYE, Moussa BOUGOUMA, Kalifa BAYO, Constantin DABIRE, Younoussa MILLOGO, Yvonne BONZI/COULIBALI, Boubié GUEL, Samuel PARE, Abdoulaye DJANDE, Issa TAPSOBA, Moussa DIENG, Nicolas AYEISSOU, Bienvenue GLINMA, Mady CISSE, Serigne Omar SARR, Abdoulaye GASSAMA, Momar NDIAYE, Hassimi SADOU, Moussa HAROUNA, Halidou HIMA IBRAHIM, Marie Jeanne OHO, Alain BIDIE.

Société Ouest Africaine de Chimie S.O.A.CHIM

Bénin, Burkina Faso, Côte d'Ivoire, Guinée (Conakry), Mali, Niger, Sénégal, Togo

Reconnue par récépissé n°96.008/MAT/SG/DGAT/DLPJ du 17.01.1996

Soachim 2022



Tél./Fax (226) 25 30 39 67
Email : soachimsp1994@yahoo.fr
site : www.soachim.org

Université Joseph KI-ZERBO



03 BP 7021 Ouagadougou 03 – Burkina Faso
Tel : +226 25307064/65
Mél : contact@ujkz.bf, site web : <http://www.ujkz.bf>

22^{èmes} Journées Scientifiques Annuelles de la Soachim 08 – 12 Août 2022, Ouagadougou – Burkina Faso

COMMISSION DU JURY

Président : ASSIDJO Emmanuel

Membres : SIAKA Sorho, Ibrahim TCHAKALA, Kwamivi SEGBEAYA, Kosi Mawuena NOVIDZRO, Adamou RABANI, Amadou Tidjani ILLAGOUMA, Zanguina ADAMOU, Malam Alma MOUSBAHOU, Haoua AMADOU, Maman Sani LAOUALI, Gaston KPOTIN, Sèmiyou OSSENI, Simplicite KOUDJINA, Lyde TOMETIN, KONFO T. R Christian, YETE-KPODO Pélagie, ANIN Atchibri, Landry KABLAN, OUATTARA Lanciné ; Jonas ANDJI, Amon Benjamin ASSOMA, Bintou SESSOUMA, Mabinty BAYO-BANGOURA, Mamoudou DICKO, Lamine ZERBO, Adama HEMA, Annette OUATTRA,

COMMISSION DU RAPPORT GENERAL

Rapporteur général : KUEVI Armand

Membres : Tambi RAMDE

SOMMAIRE

Conférences plénières

Conférences		
N°	Titre des communications	Pages
P1	Impacts socio-économique, environnemental et sanitaire de la pandémie de la COVID-19 sur l'exploitation de l'or noir de l'Afrique : Menaces entropiques sévères à l'égard de Vittelaria paradoxa Amoussatou Sakirigui	2
P2	Physical, hydric, thermal and mechanical properties of earth renders amended with dolomitic lime. Halidou Bamogo, Moussa Ouedraogo, Issiaka Sanou, Jean Emmanuel Aubert, Younoussa Millogo	3
P3	Changements climatiques : Questions relatives aux axes de recherche en matière d'émission et d'atténuation des émissions de gaz à effet de serre SABI Kokou,	4

Groupe thématique 1 (ReMOA)

Chimie des matériaux naturels et de synthèse

Communications		Pages
Effet inhibiteur de la pyridoxine hydrochlorée dans la corrosion de l'aluminium en HCl 1M : études gravimétriques et théoriques Yeo Mamadou, Tigori Mougo André, Kouakou Victorien, Niamien Paulin Marius		6
Caractérisation physico-chimique des phosphates naturels de Kotchari pour une meilleure utilisation en agriculture Jean Baptiste Zoungrana, Corneille Bakouan, Brahima Sorgho, Dimanche Régie Ouedraogo, Boubié Guel		14
Elaboration et caractérisation de nanoparticules d'argile pour une application à l'élimination du Cr(VI) en solution synthétique GORO Hadi Hamadoum ¹ , Corneille BAKOUAN ^{1,2,*} , Brahima SORGHO ¹ , Dimanche Régie OUEDRAOGO ¹ , Boubié GUEL		21
Caractérisation de deux argiles ivoiriennes en vue de les valoriser dans l'éco-construction Kouakou Lébé Prisca M-S, Kouamé Niamien Alfred, Gouré Doubi Bi Irié Hervé, Méité Namory, Kangah Jean Thierry, Zokou Esmel Privat Z, Konan Koffi Léon, Andji-Yapi Yao Jonas		28
Valorisation des biomasses locales en biochar : caractérisation physico-chimique du biochar pour l'amendement des sols IBRAHIM GREMA Maman Hamissou, YAO Kouassi Benjamin, BROU Yao Casimir		33
Utilisation des déchets agricoles et industriels pour la formulation des matériaux de construction GARBA LABO Mahaman Nazirou, FANOU Guy Didier, YAO Kouassi Benjamin		36

<p align="center">Optimisation du systeme ternaire $\text{AgNO}_3 - \text{KNO}_3 - \text{NaNO}_3$ par la methode CALPHAD</p> <p align="center">Wedjers Max Robin Manouan, Edouard Koffi Kouassi, David Boa, Hmida Zamali, Dalila Hellali</p>	39
<p align="center">Durabilité des pates cimentaires amendées à la cendre de balle de riz en milieu acide chlorhydrique</p> <p align="center"><u>Issiaka Sanou</u>, Moustapha Sawadogo, Tambi Ramdé , Moussa Ouedraogo, Halidou Bamogo, Mohamed Seynou, Lamine Zerbo, Younoussa Millogo</p>	45
<p align="center">Propriétés physiques et mécaniques des adobes renforcés au ciment et aux fibres de kenaf</p> <p align="center"><u>Issiaka Sanou</u>, Kalifala Dao, Moussa Ouedraogo, Halidou Bamogo, Kouka Amed Jeremy Ouedraogo, Jean-Emmanuel Aubert, Younoussa Millogo</p>	54
<p align="center">Évaluation critique et modélisation des propriétés thermochimiques du nitrate d'argent à l'aide de la méthode Calphad</p> <p align="center">Edouard Koffi Kouassi, Wedjers Max Robin Manouan, David Boa, Hmida Zamali, Dalila Hellali</p>	63
<p align="center">Développement, validation et application sur quinze substances saisies contenant le tramadol hydrochloride par spectrophotométrie UV</p> <p align="center">Salifou Karimoune Fadjimata</p>	69
<p align="center">Utilisation de la latérite dans le procédé fenton</p> <p align="center">ATSE Wilfried Aristide¹, KPINSOTON Gloria Murielle Rostandi², ESSI Marc Marie Maurice Meledge¹</p>	78
<p align="center">Utilisation d'un matériel végétal dans le traitement des eaux usées domestiques de la décharge d'Akouedo</p> <p align="center">Sagou Sagou Jean-Pierre, Bolou Bi Bolou Emile</p>	84
<p align="center">Synthèse et études physico-chimiques de complexes de la phtalocyanine d'or substituée à la périphérie pour des applications en photo-électrocatalyse</p> <p align="center">Aristide Nitiema, Mabinty Bayo, Lassané Tarpaga , Bertrand Ouemega , Karifa Bayo</p>	92
<p align="center">Synthèse et étude cristallographique par DRX de Structures de Complexes Lanthanide(III) (Nd(III) et Sm(III)) obtenus avec un ligand Base de Schiff Tridentate, Activités Antioxydantes</p> <p align="center">M. Thiam, M. N. Gueye, M. Dieng, I. E. Thiam, D. Lo, A. H. Barry, M. Gaye, P. Retailleau</p>	104
<p align="center">Synthèse, études spectroscopiques et diffraction des rayons X des complexes heptacoordinnés de Mn(II) et de Co(II) heptacoordinnés avec des ligands dérivés du Carbonohydrizide</p> <p align="center">Dame Gadiaga</p>	110
<p align="center">Influence de la température et du palier de calcination sur les propriétés physico-chimique, minéralogique et pouzzolanique de cendres de bagasses de canne à sucre</p> <p align="center">Ouedraogo Moussa, Sawadogo Youssouf , Sory Nassio, Sawadogo Moustapha, Sanou Issiaka, Zerbo Lamine, Millogo Younoussa, Seynou Mohamed</p>	117
<p align="center">Formulations de blocs de terre comprimée Biosourcés (BTC-B) à base de terre d'argile amendée au poudre de coque d'arachide</p> <p align="center">Nassio Sory, Issiaka Sanou, Issouf Sawadogo, Moussa Ouedraogo, Bamogo Halidou, Lamine Zerbo, Mohamed Seynou</p>	129
<p align="center">Synthèse, caractérisation et activité antioxydante de complexes de lanthanide(III) avec ligand de base schiff tridenté. Structure cristallique X-ray du complexe Ce(III).</p> <p align="center">Seydou Sané</p>	144

Etude comparative des caractéristiques physico-chimique, minéralogique et morphologique d'une argile du Niger et de sa fraction argileuse : application à la synthèse des catalyseurs aluminosilicates ZSM-5. Adamou Ibro Abdourahamane, Yao Kouassi Benjamin, Gueu Soumahoro, Manzola Abdou Salam.	152
Etude quantitative des minéraux d'une céramique poreuse formulée à partir de l'argile de Sabcé et de la coque d'arachide Joël Samba, Youssouf Sawadogo, Moussa Ouedraogo, Moustapha Sawadogo, Mohamed Seynou, Lamine Zerbo	162
Valorisation des déchets agricoles au Togo : Production et caractérisation physico-chimique des briquettes Adjo Cynthia Kouakou, Kokou Agbékonyi Agbodan, Lumo Awaga, Koffi Jondo	169
Effet de la cendre des balles de riz sur l'activation de la géopolymerisation d'une argile kaolinite du Togo Anove Komla Mawoulikplim, Tchegueni Sanonka, Degbe Koffi Agbegnigan, Tchangbedji Gado	174
Amélioration de la résistance à la corrosion d'un alliage d'aluminium recyclé artisanalement par un traitement au 3-aminopropyltriéthoxysilane (APTES) par processus sol-gel Ousmane Tapsoba, Tambi Ramdé, Boubié Guel, Lucien Bonou	178
Synthèse et caractérisation des nanoparticules d'alumine gamma à partir de la bauxite locale du Burkina Faso Ollé Rodrigue Kam, Corneille Bakouan, Inoussa Zongo, Boubié Guel	187
Complexes de coordination Fer(II) poly bipyridine pour batterie au lithium : Impact de la nature de l'électrolyte sur le matériau actif de la cathode. Adama Sy, Dame Gadiaga, Fahim Hamidouche, Lauréline Lecarme, Jean Claude Lepretre	194
Étude de l'impact de la variation des proportions des matières premières minérales sur les propriétés technologiques d'une porcelaine Youssouf Sawadogo, Moussa Ouédraogo, Nassio Sory, Moustapha Sawadogo, Mohamed Seynou ^a , Lamine Zerbo, Philippe Blanchart	201
Evaluation de la réactivité des 04 terres argileuses pour la production des BTC stabilisées à la chaux (analytique et sous-produit) : Propriétés physico-mécaniques Seick Omar Sore, Tarmangue Dime, Philbert Nshimiyimana, Adamah Messan, Luc Courard	213
Adsorption de l'Indigo Carmine sur du charbon activé produit à partir des épis de maïs Armand Essis ABO, Yobouet Yao Augustin KOUAKOU Yao Urbain , et Albert TROKOUREY	225
Développement de nouvelles méthodologie de synthèse de cycloproanation-arylante Coulibali Siomenan, Camara Tchambaga Etienne, Canesi Sylvain	232
Électrochimie du palladium dans des solvants eutectiques profonds Moussa Bougouma, Soma Fousséni, Quentin Rayée, Françoise Diendéré, Claudine Buess-Herman, Thomas Doneux	237
Synthèse, détermination structurale de nouveaux base de Schiff carbonohydrzones et leurs complexes 3d et 4f : Etude des propriétés biologiques et physiques Thierno Moussa Seck*, Ousmane Diouf, Mamour Sarr , Abdou Salam Sall, Mohamed Lamine Gaye	244
Synthèse, caractérisation d'un nouveau complexe tétranucléaire de zinc dérivant d'un ligand dicarbonohydrzone symétrique. Babacar Diop, Thierno M. Seck, Ousmane Diouf, Farba B. Tamboura, Mohamed L. Gaye	256
Evaluation des propriétés hydriques des films plastiques à base d'amidon de manioc renforcés au kaolin et au métakaolin	262

Méité Namory , Konan Koffi Léon, Tognonvi Tohoué Monique, Kouakou Lébé Prisca M-S, Kouamé Niamien Alfred, Sanou Ali, Oyetola Samuel 262	
Conception de surfaces nanostructurées avec des propriétés parahydrophobes par électrodéposition de polymères conducteurs Thiam El hadji Yade, Sow Salif, Dramé Abdoulaye, Darmanin Thierry	275
Investigation structurale sur l'arrangement des molécules de bisphénol-A dans les espaces inter-feuillets des organo-argiles Issaka Garikoé, Brahima Sorgho, Corneille Bakouan, Boubié Guel ¹ and Ingmar Persson	281

Groupe thématique 2 (ReSBOA) :

Chimie des Substances Biologiquement Actives extraites des plantes médicinales en zone sahélo- saharienne

Communications	Pages
Efficacité bactéricide des extraits de <i>Terminalia ivorensis</i> A. Chev. (Combretaceae) pour contrôler les bactéries pathogènes et d'altération d'origine alimentaire Pégnonsienrè Lacina Soro, Ousmane Coulibaly, Kamou Richard Kamou, Kahafénéchon Martial Toure Et Karamoko Ouattara	291
Etude comparde l'activite antioxydante des extraits hydroethanoliques de feuilles de <i>lippia multiflora</i> avant et apres extraction de l'huile essentielle Sibiri Ferdinand Sanou, Yaya Soro, Sorho Siaka	298
Criblage phytochimique d'<i>Euphorbia Heterophylla L</i> Adjeme N'Cho Michel	305
<i>Alchornea cordifolia</i> (Euphorbiaceae) : Influence du type d'extraction sur les phytophénols et leurs potentiels antioxydant et analgésique Pierre Alain Kouassi Konan, Kohué Christelle Chantal N'gaman-Kouassi, Janat Akhanovna Mamyrbekova-Békro, Yves-Alain Békro	310
Caractérisation chimique des huiles essentielles de feuilles de <i>Oricia suaveolens</i> (Rutaceae) de Côte d'Ivoire Kouao Toffé Alexis, Ouattara Zana Adama, Kambiré Didjour Albert, Kouame Bosson Antoine, Mamyrbekova-Bekro Janat Akhanovna, Tomi Felix, Bekro Yves-Alain	318
Activités antioxydante et antibactérienne des huiles essentielles de <i>Melanthera scandens</i> et de <i>synedrella nodiflora</i> deux Asteraceae de la flore ivoirienne Konan N'dri Séraphin, Kouame Bosson Antoine ; Mamyrbekova-Békro ; Konan Koffi Marcel Et Bekro Yves-Alain	329
Développement de nouvelles méthodologie de synthèse de cycloproanation-arylante Coulibali Siomenan, Camara Tchambaga Etienne, Canesi Sylvain	335
Synthèse et potentiel antibactérien de nouvelles molécules dérivés du 2-thiobenzyl-3-nitro imidazo[1,2-a] pyridine Coulibali Sioménan, Ablo Evrard, Toure Daouda, Coulibaly Souleymane	339
Évaluation de la bioefficacité de trois extraits hydroalcooliques issus des deux postions radiales de trois essences ligneuses durables ivoiriennes contre les larves de <i>Spodoptera frugiperda</i> en milieu semi-contrôlé	345

Appolinaire Bley Bley-Atse, Armand Nahoulé Adja, Florence Bobelé Niamke, Augustin Amissa Adima, Tahiana Ramanantoandro, Mathias Danho, Jean Claude N'guessan Yao, Nadine Amusant	
Saponines et flavonoïdes glycosylés des feuilles de <i>Ziziphus mauritiana</i> (Rhamnaceae) de la zone forestière de Côte d'Ivoire	350
Chardin Seri Seri, Timothée Aboua Okpekon, Philomène Akoua Yao-Kouassi ¹ harisolo Ramiarantsoa, Joël Dade, Laurence Voutquenne-Nazabadioko	
Conceptualisation, synthèse et évaluation de l'activité antibactérienne de dérivés du 2-thiobenzylméthyl-1H-benzimidazole	354
Molou Kouassi Yves Guillaume, Achi Patrick-Armand, Coulibali Siomenan	
Activité antiradicalaire d'une crème corporelle formulée à base de l'amande de la noix de cajou	359
Touré Abdoulaye, Guehi Monnou Sophie, Boni Ahoussi Pascal, Kabran Aka Faustin, Touré Daouda, Konan Dibi Jacques, Ballo Daouda, Soro Yadé René, Attioua Koffi Barthélemy, Kablan Ahmont Landry Claude	
Controle de qualite des tubercules de <i>vernonia kotschyana</i> sch. Bip. Ex walp mise en culture au Mali	369
Diarra Mamadou Lamine, Haidara Mahamane, Sanogo Rokia	
Evaluation de la qualite botanique, physicochimique, phytochimique et de l'activite anti-radicalaire de la pulpe de fruits de <i>ziziphus mauritiana</i> lam (rhamnaceae), recoltes au Mali	375
Diarra Mamadou Lamine, Haidara Mahamane, Mariko Madani, Dao Kayatou, Coulibaly Djeneba, Sanogo Rokia	
Activités antibactériennes d'huiles essentielles extraites de feuilles de <i>Hyptis suaveolens</i> et de <i>Lippia multiflora</i> contre des bactéries multi-résistantes	383
GOLY Kouassi Roselin Cyrille YOBOUE Behibolo Antoinette SORO Yaya	
Etude phytochimique, évaluation de l'activité antiradicalaire et valorisation de l'épluchure et de l'amande du noyau de deux variétés de mangue (<i>Mangifera indica</i> L.)	388
Guehi Monnou Sophie, Touré Abdoulaye, Kouakou Kouamé Frederic, Boni Ahoussi Pascal, Kabran Aka Faustin, Touré Daouda, Konan Dibi Jacques, Ballo Daouda, Coulibaly Adama, Attioua Koffi Barthélemy, Kablan Ahmont Landry Claude	
Nouveaux composés naturels isolés de l'huile essentielle de feuilles de <i>Isolona dewevrei</i> (Annonaceae) de Côte d'Ivoire	395
Didjour Albert Kambiré, Thierry Acafou Yapi, Ahmont Claude Landry Kablan, Zana Adama Ouattara, Ange Bighelli, Jean Brice Boti, Joseph Casanova, Félix Tomi.	
Composition chimique et élucidation structurale de quatre nouveaux sesquiterpènes oxygénés de l'huile essentielle de feuilles de <i>Isolona dewevrei</i> (Annonaceae) de Côte d'Ivoire	406
Didjour Albert Kambiré, Thierry Acafou Yapi, Ahmont Claude Landry Kablan, Zana Adama Ouattara, Ange Bighelli, Jean Brice Boti, Félix Tomi, Joseph Casanova.	
Caractérisation chimique des huiles essentielles de feuilles et de tiges de <i>Lagera pterodonta</i> de Côte d'Ivoire : Isolement et élucidation structurale de trois nouvelles molécules	416
Didjour Albert Kambiré, Thierry Acafou Yapi, Ahmont Claude Landry Kablan, Zana Adama Ouattara, Jean-Jacques Filippi, Ange Bighelli, Jean Brice Boti, Félix Tomi	
Synthèse et activités antibactériennes de nouveaux dérivés thiouraciles	418
Rachelle Die, Ambeu Christelle, Fanté Bamba, Marie-Aude Hiebel, Franck Suzenet, Aurèlie Vallin, Vincent Chagnault	
Activité antioxydante de <i>Cyclosorus afer</i> (Thelypteridaceae)	423
Brou Helvis Koffi, Kabran Aka Faustin, Kablan Ahmont Landry Claude, Ouffoué Koffi Sébastien, Konan Dibi Jacques, Attioua Koffi Barthélemy	
Isolement et purification de composés phénoliques de <i>Ocimum gratissimum</i>	426

Kacou Koffi Christ Emmanuel Mondésir, Kabran Aka Faustin, Kablan Ahmont Landry Claude, Koua Oi Koua, Adiko Assamoi Vincent, Konan Dibi Jacques, Attioua Koffi Barthélemy	
Phytochimie et activité d'<i>anonna senegalensis</i> contre le syndrome Hemorragique cause par le venin de <i>bitis rhinoceros</i> (viperidae) en Côte d'Ivoire.	432
Golly Koffi Julien, Yapo-Crezoit Chiayé Yobouet Dedrekwaku Camman Benoit Akaffou Marc H Siaka Sorho, Soro Yaya Djaman Allico Joseph	
Évaluation <i>in vitro</i> de l'activité antioxydante des extraits aqueux et éthanoliques des feuilles de <i>Myrianthus holstii</i> (Cecropiaceae)	436
Yeo Sounta Oumar Konan N'dri seraphin, Silué Kalamourou, Mawa Traoré, Doumbia Idrissa, Djaman Allico Joseph et Coulibaly Adama	
Caractéristiques chimiques des feuilles de <i>Hyptis suaveolens</i> après extraction de l'huile essentielle	442
Soumahoro Brahima; Soro Yaya; Siaka Sorho	
Activités analgésique et antipyrétique d'un extrait aqueux des tourteaux de la pomme de cajou (<i>Anacardium occidentale</i> L.)	453
Mamadou Dosso, Allali Eugène Koffi, Doudjo Soro, Ali Traore Et Nafan Diarrassouba	
Nouveau phyllocoumarin glucosylé isolé des racines de <i>Lannea kerstingii</i>	460
Philomène Akoua Yao-Kouassi, Jean-Michel Kouamé Koffi, Zachée Louis Evariste Akissi, Abdulmagid Alabdul Magid, Laurence Voutquenne-Nazabadioko	
Activité anti-pyretique de l'extrait aqueux d'écorce de <i>Pseudocedrela kotschy</i> (schweinf.) Harms (Meliaceae)	466
Tianga Yaya Soro, Coulibaly Sirabana, Mian Jean Cla	
Synthèse et Activité Antibactérienne <i>in vitro</i> de Nouveaux dérivés 2-thiométhyl-benzimidazoles	472
ZON Doumade, Ablo Evrard, Coulibaly Siomenan, Camara Tchambaga Etienne, Toure Daouda, Coulibaly Souleymane, Sissouma Drissa et Adjou Ané	
Réactions de Cycloaddition 1,3-Dipolaire Sur Les Dérivés De La 2- [(5-Méthyl-Isoxazol-3-yl)]Méthyl]Benzimidazoles : Synthèse De Nouvelles 1,2,3-Triazolo-Benzimidazoles	478
Mohamadou Lamine Doumbia, M'bouille Cisse, Assoman Serge Alain Kouakou, Vakaba Doumbouya, Bakary Coulibaly, Nahosse Ziao, Rakib El Mostapha, El Mokhtar Essassi	
Phytochimie et activité d'<i>anonna senegalensis</i> contre le syndrome hemorragique cause par le venin de <i>bitis rhinoceros</i> (viperidae) en Côte d'Ivoire.	484
Golly Koffi Julien, Yapo-Crezoit Chiayé, Yobouet Dedrekwaku Camman Benoit, Akaffou Marc H, Siaka Sorho, Soro Yaya, Djaman Allico Joseph, Mireille Dosso	
Qualité botanique, physicochimique et constituants chimique et anti-antiradicalaires des parties aériennes de <i>Euphorbia hirta</i> L (Euphorbiaceae), récoltées au Mali	488
Dembele Daouda L, Denou Adama, Doumbia Sékou, Sangare Pierre Ahmadou, Sanogo Rokia	
Synthèse et évaluation de l'activité antibactérienne des dérivés du 4,5-diphényl-1H-imidazole	497
Coulibaly Bamoro, Fanté Bamba, Aurélie Vallin, Vincent Chagnault	
Contrôle de la qualité des antipaludiques à base d'artemether-luméfantine vendus dans les officines	504
Cisse Mody, Keita Ousmane, Sidibe Awa, Sow Fatoumata Tata, Adamou Mohamadou, Dembele Ousmane, Cisse Bakary Moussa, Coulibaly Seydou Moussa, Wele Mamadou, Sangare Modibo, Koumare Y. Benoît	
Valorisation agricole des coques de cacao et des feuilles de moringa	513
Yao Koffi Aimé, Akmel Djedjro Clément, Assidjo Nogbou Emmanuel	
Synthèse et étude structurale de deux dérivés c-acylés de la 4-hydroxycoumarine	526
Youssoufou Bakouan, Bintou Sessouma, Lassané Tarpaga, Rawendé Sedego, Jules Yoda, Abdoulaye Djandé	

Qualité botanique et constituants chimiques et antiradicalaires de deux plantes utilisées dans les troubles de ménopause au Mali	527
Doumbia Sékou, Haidara Mahamane Dembele Daouda L Demele K OumouSanogo Rokia	
Composés phénoliques et activité antioxydante des extraits de <i>Eucalyptus camaldulensis</i> et <i>Hyptis suaveolens</i>, deux plantes médicinales acclimatées au Burkina Faso	534
Maiga Idrissa, Ouattara Lamoussa Paul, Bationo K. Rémy, Bazie B. Valérie, Zongo Cheickna, Nebie C. H. Roger	
Activité antioxydante <i>in vitro</i> des flavonoïdes de <i>Flueggea virosa</i> (wild) Voigt, récolté au Mali	535
Niaboula Dembele, Aimé Somboro, Issiaka Togola, Mamadou Badiaga, Nah Traore	
Criblage phytochimique et activité antimicrobienne des extraits méthanoliques de deux plantes aromatiques et médicinales du Burkina Faso	544
Ouattara Lamoussa Paul, Maiga Idrissa, Zerbo Mamourou, Bazie B. Valérie, Bationo K. Rémy, Zongo Cheickna, Savadogo Aly, Nebie C. H. Roger	
Effet bio-herbicide d'extraits de 13 plantes locales du Burkina Faso sur les graines de <i>Striga hermonthica</i> (Del.) Benth	545
Sawadogo/Ilboudo Tinkoudougou Cathérine ^{1*} , Yonli Djibril ² , Sourabié Soumaïla ² Traoré Hamidou ² , Boussim Joseph Issaka ³	
Effet de la poudre et des extraits acétonique et éthanolique de <i>Ctenium elegans</i> sur <i>Amitermes evuncifer</i>	546
Oudjaniyobi Simalou, Kodjo Adande, Boris Dodji Kassene, Eyabana Mollong, Kafui Kpegba	
Effets de la graine de <i>Griffonia simplicifolia</i> (DC.) Baill. contre le stress thermique chez les poulets de chair de souche Sasso, à croissance lente	553
Novidzro Kosi Mawuéna, Egbare Natacha Mazabello, Melila Mamatchi et Metowogo Kossi	
Capacité antioxydante et composition phytochimique de trois plantes médicinales récoltées au Mali	564
Donatien Koné, Oumar Touré, Mamadou A. Konaré, Moussa Sidibé, Zoumana S. Traoré	
Purification et caractérisation chimique de dimères de stilbènes d'origine synthétique/ Purification and chemical characterization of stilbene dimers of synthetic origin	569
Akissi Evariste, Sursin Emmanuel, Flourat Amandine, Vinet Julien, Martinez Agathe, Borie Nicolas, Peyrot Cedric, Courot Eric, Nuzillard Jean-Marc, Renault Jean-Hugues, Allais Florent and Voutquenne-Nazabadioko Laurence	
Effects of new neuraminidase 1 inhibitors extracted from <i>Olyra latifolia</i> L.: preliminary study	574
Albrecht Camille, Akissi Zachée Louis Evariste, Yao-Kouassi Philomène Akoua, Alabdul Magid Abdulmagid, Maurice Pascal, Duca Laurent, Voutquenne-Nazabadioko Laurence, Bennisroune Amar	
Activité antibactérienne des extraits aqueux de <i>Tetrapleura tetraptera</i> Schumacher. Thonn. (Fabaceae)	581
Ahon Gnamien Marcel, Golly Koffi Julien, Allou N'guetta Etienne Salomon, Ackah Jacques Auguste Alfred Bognan	
Évaluation du potentiel nutritionnel des feuilles de <i>Xanthosoma mafaffa</i> (L.) Schott, utilisées comme légumes-feuilles au Togo	586
Kanabiya Essodjolon Prospère, Mélila Mamatchi, Novidzro Kosi Mawuéna, Dotse Kokouvi, Koumaglo Kossi Honoré	
Développement de 2'-hydroxychalcones inhibiteurs de la cyclooxygénase-2	594
Gueye Rokhaya, Andouard Déborah, Hantz Sébastien, Fagnère Catherine, Liagre Bertrand, Bernardaud L, Pouget Christelle, Diop Yérim Mbagnick, Duroux Jean-Luc, Alain Sophie	
Etude phytochimique et activité antioxydante comparative des extraits du tronc et des racines de <i>strychnos innocua</i>	601
Mawaté Florance Brukum, Kafui Kpegba, Amegnona Agbonon, Oudjaniyobi Simalou	

Composition chimique, activité antioxydante et antiproliférative sur des cellules cancéreuses de la prostate et du col de l'utérus de l'huile essentielle de <i>Lantana camara</i>	608
Bayala Bagora, Coulibaly Laetitia Liz, Zongo Fabiene, Ouedraogo Estelle, Djigma Florencia Wendkuuni, Yonli Albert, Baron Silvère, Figueredo Gilles, Lobaccaro A. Jean-Marc, Simpure Jacques	
Impacts du changement climatique et de la pression démographique sur la disponibilité environnementale des plantes médicinales galactogènes et de fortification de l'enfant au Niger.	615
Hama Garba Rahila, Idrissa Moussa, Hassimi Sadou	
Identification de flavonoïdes par CLHP-MS/MS des extraits des graines de haricot mungo (<i>Vigna radiata</i>) produit dans des conditions agroécologiques du Burkina Faso	628
Mahamadi Ouedraogo, Adama Hema, Bazoin Sylvain Raoul Bazié, Elie Kabré, Serge W. F. M. Zida, Benoit Joseph T. Batiéno, Eloi Palé, Mouhoussine Nacro	
Une nouvelle CystodytineAlkaloïde Tétracyclique aromatique isolés d'une ascidie marine récoltée au large du Sénégal. <i>1</i>	636
Mohamet Diop*, Abou Moussa Sow, Ibrahima NDIAYE, Mohamed Mehiri	
Les endoperoxydes comme substituts de [$*O$]O₂ pour la synthèse de molécules complexes marquées à l'oxygène par génération ex situ.	641
Marie-France Bakai Philippe Hermange Magali Szlosek Patrick Toullec Eric Fouquet	
Activités antiradicalaires des extraits de feuilles d'<i>Odontonema Strictum</i> (acanthaceae)	648
Issaka Konane, Moumouni Koala, Kini B. Félix, Eloi Palé	
Activité biofongicide de formulation à base d'huiles essentielles contre les moisissures responsables de contamination post-récolte du maïs	654
Ouattara Lamoussa Paul, Dindane Zakaria, Soala W. Romain, Sawadogo Ignace, Zongo Cheickna, Konate Kiéssoun, Zida P. Elisabeth, Nebie C. H. Roger	
KARISO : Produits naturels à base du beurre du karité pour l'alimentation, la santé de la peau et les soins des cheveux <i>1</i>	655
Mongonbayabou Lamatetou Alaki-Issi Massimapatom Sema Afi Elisabeth Samah	
Evaluation de l'activité anti-radicalaire et identification de molécules anthocyaniques du fruit mûr de <i>Ziziphus mucronata</i>	661
Arrounan Noba, Adama Hema, Bazoin Sylvain Raoul Bazié, Paulin Ouôba, Constantin M. Dabiré, Remy K. Bationo, Moumouni Koala, Elie Kabré, Eloi Palé et Mouhoussine Nacro	
Activités antioxydantes et effets inhibiteurs des fractions de <i>Cassia occidentalis</i> et de <i>Leptadenia hastata</i> sur l'enzyme α-glucosidase	668
Wende-Konté Hazael Conania Nikiema, Yssouf Karanga, T. Hamidou Ganame, Ousmane Ilboudo, Issa Tapsoba	
Etude phytochimique, teneurs en composés phénoliques totaux et potentiel antioxydants de différents organes de <i>Grangea maderaspatana</i> du Burkina Faso	676
Youngoubo Abdoulaye, Dabire Constantin M., Bationo K. Rémy, Hema Adama, Palé Eloi, Nebie C.H. Roger, Danhabal S.P	
Approche métabolomique chez les patients hypertendus révélant un dimorphisme sexuel	684
Yaya Goïta, Juan Manuel Chao de la Barca, Asmaou Keita, Boubacar Sidiki Ibrahim Dramé, Delphine Mirebeau-Prunier, Bakary Mamadou Cissé, Gilles Simard, Pascal Reynier	
Etude phytochimique et activité antiradicalaire des feuilles de <i>Lannea velutina</i> A. Rich, plante utilisée dans le traitement traditionnel de l'hypertension artérielle au Burkina Faso	692
Boukaré Kabore, Moumouni Koala, Lazare Belemnaba, Adama Hema, Sylvain Ouedraogo, Eloi Pale	
Composition chimique et activité antioxydante des huiles essentielles obtenues par co-distillation de <i>Mentha piperita</i>, <i>Cymbopogon citratus</i> et <i>Hyptis suaveolens</i>	701
Nébié Bily, Dabiré Constantin M., Palé Eloi, Nébié Roger et Duez Pierre	

Composition chimique et propriétés antifongiques de l'huile essentielle obtenue par co-distillation de <i>Cymbopogon citratus</i> et <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	708
Bily Nebie, Constantin M. Dabire, Schemaeza Bonzi, Roger C.H. Nebie, Irénée Somda Et Pierre Duez	
Activité antidiabétique et identification de flavonoïdes des extraits de <i>Euphorbia hirta</i> L.	715
Karanga Yssouf, Nikiema Wende-Konté Hazael Conania, Ganame Têeda Hamidou, Ilboudo Ousmane, Tapsoba Issa	
Teneur en composés phytochimiques, criblage et activités antioxydantes/pro-oxydantes des écorces de <i>Carapa procera</i> (Méliacées)	724
Insa Seck, Anamaria. Hosu, Claudia Cimpoi, Samba Fama Ndoye, Lala Aicha Ba, Cheikh Sall, Matar Seck	
Synthèse stéréosélective organocatalysée des stereotriades contenant le motif 1,3-diol	733
Diallo Ibrahima, Mbow Bédié, Diop Birane, Fofana Mouhamadou, Bressy Cyril	
Essai de formulation d'un complément alimentaire à base d'extraits secs des calices de fleurs de <i>Hibiscus sabdariffa</i>	740
Ousséni Sawadogo, Eloi Palé, Hermine Zime, Sidonie Zongo, Rasmane Semde, Adama Hema, Remy K. Bationo, Moumouni Koala, Constantin M. Dabiré, Et Mouhoussine Nacro	
Etude phytochimique de <i>Guiera senegalensis</i>, une plante utilisée pour soigner les parasitoses (paludisme) au Burkina Faso	748
Sié Amédée Palé, Eloi Palé, Remy K. Bationo, Adama Hema, Constantin M. Dabiré, Moumouni Koala et Mouhoussine Nacro	
Identification par HPLC-MS de trois flavonoïdes majeurs dans l'extrait colorant textile des feuilles sèches de <i>Anogeisus leiocarpus</i> et pratique tinctoriale	758
Benjamin Bazié, Adama Hema, Bazoin Sylvain Raoul Bazié, Elie Kabré, Eloi Palé, Pierre Duez, Mouhoussine Nacro	
Evaluation de l'effet des extraits de feuilles des deux espèces de <i>Datura</i> sur la sécrétion de nitrites des macrophages murins	767
Issiaka Togola, Joudy Dougnon, Nouhoum Diarra, Mamadou Abdoulaye Konaré, Méminata Diakité, Moussa Karembé, et Doulaye Dembélé	
Synthèse et évaluation de l'activité anti-Dengue des 1,2,3-triazènes	772
Seynabou Sokhna, Insa Seck, Samba Fama Ndoye, Issa Samb, Marc Pisset, Erwan Legall, Lionel Berthoux, Isabel Desgagné-Penix, Matar Seck	
Les endoperoxydes comme substituts de [*O]O₂ pour la synthèse de molécules complexes marquées à l'oxygène par génération ex situ	778
Marie-France Baka, Philippe Hermange, Magali Szlosek, Patrick Toullec, Eric Fouquet	
Synthèse de cétimines précurseurs potentiels de céténimines	783
Amavi Kpoezoun, Jean-Claude Guillemain et Gnon Baba	
Evaluation des teneurs en antioxydants et Identification structurale par HPTLC/CLHP-SM/SM de caroténoïdes de la variété BF59XCIP1 de <i>Ipomoea batatas</i> L.	790
Dominique Saga Kaboré, Adama Héma, Raoul Bazié, Moumouni Koala, Koussao Somé, Elie Kabré, Eloi Palé, Issa T. Somé, Pierre Duez, Mouhoussine Nacro	
Etude phytochimique et évaluation de l'activité antiplasmodiale des extraits de <i>Acanthospermum hispidum</i> et de <i>Tridax procubens</i> récoltés au Burkina Faso	798
Arouna Ganamé, Constantin M. Dabiré, Remy K. Bationo, Hema Adama, Moumouni Koala, Harouna Soré, Eloi Palé, Nebie C.H. Roger, et Mouhoussine Nacro	
Evaluation de l'effet antidiabétique des extraits aqueux de quatre plantes de la pharmacopée ivoirienne sur des souris	805
N'da Kessé Philippe, Koffi N'dri Emmanuel, Gbegbin Emile, Adima Amissa Augustin	

Evaluation des propriétés anticancéreuses de <i>Acacia macrostachya</i> (Mimosaceae)	811
Hamidou Têda Ganamé, Yssouf Karanga, Issa Tapsoba, Mario Dicato, Marc F. Diederich, Claudia Cerella and Richard Wantinga Sawadogo	
Activités antifongiques des extraits de feuilles de <i>Erythrina senegalensis</i> sur les germes résistants de <i>Candida albicans</i> chez les sujets infectés par le VIH	820
Ousmane Coulibaly, Pegnonsienne Lassina Soro, Tidiane Kamagate, Chiaye Yapo-Crezoit, Yaya Soro, Karamoko Ouattara	
Formulation de pommade antiseptique à base d'extrait éthanolique de feuilles de <i>Jatropha multifida</i> récoltées au Bénin.	827
Koudoro Yaya Alain, Botezatu Dediu Andreea, Anna Cazanevscaia, Olaye Théophile, Agbangnan Dossa Cokou Pascal, Alitonou Guy Alain, Avlessi Félicien, Dinica Rodica Mihaela Et Sohounhloué C. K Dominique	
Phytonutriments et potentiel antibactérien de l'extrait hydro-éthanolique des cosses de fruits de <i>Parkia biglobosa</i> (Jacq.) Benth	833
Bothon Fifa T. Diane Atindehou Mènonvè, Koudoro Yaya A Dedjiho C. Camille Agbangnan Dossa Pascal Avlessi Félicien	
Étude théorique de la structure des benzodiazepines et du mécanisme de leur régression cyclique dans l'obtention des dérivés du benzimidazole	838
A. Timotou D. Zon A.L.C. Kablan T. Camara A.J. N'gouan ; A. Adjou	
Préparation des catalyseurs hétérogènes basiques à base de polyferrite de potassium pour la transestérification de l'huile de tournesol	845
Igor W.K. Ouédraogo ^{a*} , Emma Brice Happi Tchoussa ^a , Balkissa Sawadogo ^a , Sylvie Mouras ^b , Joel Blin ^b	
synthèse et évaluation de l'activité antibactérienne de dérivés du 4,5-diphényl-1Himidazole	853
Coulibaly Bamoro Fanté Bamba Aurélie Vallin Vincent Chagnaul	
Composition chimique et propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques du Burkina Faso	861
Anass Coulibaly, Ignace Sawadogo, Mahomed Toé, Delphine M. Hema, Martin Kiendrebeogo, Roger C.H Nébié	

Groupe Thématique 3 (ReSAOA) : Sciences agroalimentaires

TITRE	Page
New process for the detoxification of bitter almond extracts : the case of <i>Hevea brasiliensis</i>	866
Bamba Soualiho, Adima AMISSA Augustin, Jean-Claude N'guessan YAO, Kouwelton Patrick Franck Olivier Kone, Kanate Losseyeni	
Influence des zones agro-écologiques sur la capacité antioxydante de variétés d'oignon bulbe (<i>Allium cepa</i> L.) cultivées au Burkina Faso	879
Virginie Marie DAKÉNE, Abdoulaye SÉRÉMÉ, Hagrétou SAWADOGO - LINGANI, Moumouni KOALA, Marius K. SOMDA et Alfred S. TRAORÉ	
Pratiques culturelles, conditions de stockage, pratiques culinaires et leurs influences sur la capacité antioxydante l'oignon bulbe (<i>Allium cepa</i> L.) cultivé au Burkina Faso	898

Virginie Marie DAKÉNÉ, Dr Abdoulaye SÉRÉMÉ, Dr Hagrétou SAWADOGO - LINGANI, Dr Moumouni KOALA, Dr Marius K. SOMDA et Pr Alfred S. TRAORÉ	
Optimisation de l'hydrolyse biochimique des glycosides cyanogéniques, pour la détoxification des extraits des amandes amères, dans un contexte alimentaire : Cas de l'amande d'hévéa	910
Bamba Soualiho Adima AMISSA Augustin Jean-Claude N'Guessan YAO Kouwelton Olivier Kone Ouattara Leygnima Yaya Patrick Franck	
Effets de deux biopesticides (astoun et ferca) à base d'extraits de plantes, utilisés dans la gestion des maladies fongiques foliaires, sur quelques facteurs de production du bananier	918
<u>KASSI Koffi Fernand Jean Martial</u> , AMARI Georges Elisée, TUO Seydou, SILUE Tenena, CAMARA brahima, KONE Daouda	
Qualité nutritionnelle et sensorielle d'une farine infantile enrichie au soja et à la spiruline et test de récupération nutritionnelle chez les enfants de 6 à 24 mois au Niger	923
Amadou Moussa Abdoul Razak, Alio Sanda Abdel Kader, Houa SABO SEINI, Hassoumi SADOU	
Evaluation de l'effet fongicide d'une formulation à base d'extrait de <i>Cymbopogon citratus</i>, contre la maladie du charbon de la canne à sucre causée par <i>Sporisorium scitamineum</i> en culture de repousse	946
KOUAME Konan Didier, YAO Kouadio Jacques-Edouard, KASSI Koffi Jean Martial, KOUAME K Gaston, BLE-BINATE Nozéné, N'GUESSAN AYA CARINE, KONE Daouda	
Étude des propriétés physicochimiques, fonctionnelles, granulométriques et fermentaires des farines composées de blé et des jeunes pousses de rônier dans la perspective de la fabrication d'un pain composé	955
Niamké Arthur Michel, Touré Abdoulaye, Soro Soronoupkoho, Sea Tehi Bernard, Djaman Allico Joseph	
Optimisation de l'hydrolyse thermochimique de la cosse de cabosses de cacao (CCC) (<i>theobroma cacao</i>) pour la production de sucres fermentescibles en utilisant la méthodologie de <i>Box-Behnken</i>	971
Ouattara Leygnima Yaya, Yao Kouassi Benjamin	
Evaluation de la qualité microbiologique des pâtisseries commercialisées dans la ville de Man (Côte d'Ivoire)	982
<i>KOFFI Affoué Carol¹, ATOBLA Koua, KOFFI Ahua René, KOFFI-NEVRY Rose</i>	
Étude comparative de la teneur en silice dans les bières ivoiriennes et importées	990
KRAMO Michelle Nadège, KOUAME Victor, TIDOU Abiba Sanogo, JONAS Schoelynck	
Influence du régime hydrique et de la fertilisation sur la production de deux variétés de tomates (<i>solanum lycopersicum</i> L) cultivées dans la commune de Diabo, région du Gbeke	998
KOUASSI Ndri Jacob, ANGOUA Kouamé Cyrille, KOUAME N'guessan et KOUADIO Yatty Justin	
Evaluation de la biodisponibilité de composés (vitamines, triglycérides, cholestérol) chez des rats après consommation de l'huile de palme rouge	1006
Béhibolo Antoinette YOBOUE épouse GNAGO, Kouassi Roselin Cyrille GOLY, Gnomblessou Georges TIAHOU, Nogbou Emmanuel ASSIDJO	
Effets d'un biofertilisant sur la composition nutritive et la capacité antioxydante de l'aubergine (N'drowa)	1011
YAO Koffi aimé, AKMEL Djedjro Clément, ASSIDJO Nogbou Emmanuel	

<p>Effet hypoglycémiant des extraits méthanoliques et acétoniques de feuilles et d'écorces de tronc de <i>Sclerocarya birrea</i> (A.Rich.) Hochst chez les souris</p> <p><i>Lahat NIANG, Fatou Kiné GUEYE, Abdoulaye THIOY, Ohouo Régina DON , El hadji Cheikh DIALL, Marième SOUMARE, Nicolas Cyrille AYEISSOU , Mahamat SEID ALI, Mady CISSE</i></p>	1018
<p>Etude sur la cinétique de dégradation de la vitamine c dans le jus de pomme de cajou clarifié à la gélatine et pasteurisé au cours de sa conservation</p> <p>KOUASSI Kan Kouassi Parfait, SORO Doudjo, KONE Youssouf Kisselmina Youssouf, ASSIDJO Nogbou Emmanuel, YAO Kouassi Benjamin</p>	1030
<p>Caractérisation physico-chimique et phytochimique de l'huile et des tourteaux des graines <i>Quassia undulata</i> (GUILL. & PERR.)</p> <p>Ndiaye Seyni , NDIAYE Bou , Cissé Oumar Ibn Khatab , Cissé Mady, Gueye Mathieu, Qi Zhang, Ayessou Nicolas Cyrille Mensah</p>	1040
<p>Étude comparative de deux aliments à base de mil enrichis avec de l'amande de cajou et du souchet</p> <p><i>TRAORE Sékou, AKAKI Koffi David</i></p>	1048
<p>: Effets de la technique de séchage utilisée sur les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et l'activité antioxydante, de cinq variétés de mangue (<i>Mangifera indica</i>) séchées au Sénégal.</p> <p>Ibrahima BA (baibrahima705@gmail.com), Mouhamadou FOFANA (fofpc@yahoo.fr) et Moussoukhoye DIOP (moussou_diop@yahoo.fr)</p>	1060
<p>La chenille <i>Imbrasia obscura</i> (Butler, 1878) (Lepidoptera : Saturniidae) consommée dans la région de la Kara au Togo</p> <p>BADANARO Fègbawè</p>	1077
<p>Activité Antiaflatoxinogène de formulations biofongicides utilisées dans la conservation post-récolte de maïs au Burkina Faso</p> <p>DINDANE Zakaria, SOALA W. Romain, OUATTARA Lamoussa Paul, SAWADOGO Ignace, ZONGO Cheickna, KONATE Kiéssoun, ZIDA P. Elisabeth, NEBIE C. H. Roger</p>	1089
<p>Impacts des conditions de stockage sur les caractéristiques physico-chimiques de l'huile des graines du fruit de baobab (<i>Adansonia digitata</i> L.)</p> <p>Edouard Mbarick NDIAYE, Nicolas Cyrille AYEISSOU, Mady CISSE.</p>	1092
<p>Analyse de quelques paramètres physico-chimiques à base de la confiture de pomme de cajou</p> <p>Dégni Marie B. L., Soro Doudjo, Awa-N'Goran Zita, Assidjo N. Emmanuel</p>	1107
<p>Stabilisation des jus par voie électrochimique exemple du jus d'<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.</p> <p>Khady NDIAYE, Cheikhou KANE, Nicolas AYEISSOU, Mady CISSE, Codou Mar DIOP</p>	1113
<p>Conversion des grains de riz avariés à la valorisation en bioéthanol</p> <p>Gnimdou Issanga ABLI ; Kosi Mawuéna NOVIDZRO ; Sassou MEGNASSAN ; Kossi Honoré KOUMAGLO</p>	1122
<p>Infusions et micronutriments pour le renforcement de l'immunité dans la lutte contre la pandémie à COVID 19</p> <p>FAYE Mamadou, CISSE Oumar Ibn Khatab et CISSE Mady et AYEISSOU Nicolas</p>	1127

<p>Potentiel fonctionnel des feuilles, pétioles, pulpes et amandes torréfiées du <i>Tamarindus indica L. du Bénin</i></p> <p>KANFON Rose E AGBANGNAN D. C. Pascal, CHADARE Flora Josiane</p>	1139
<p>Contribution à la valorisation locale des protéines fongiques des ressources forestières non ligneuses du Mali : Cas de <i>Pleurotus populinus</i>, <i>Auricularia cornea</i> et <i>Chlorophyllum palaeotropicum</i></p> <p>Karim Dagno, Mahamoudou Traoré , Moussa Kanté</p>	1149
<p>Etude de la bioaccumulation des métaux lourds, Fer II, Cuivre II et Chrome VI, dans les huîtres perlières rayées : <i>Pinctada imbricata radiata</i> (Leach, 1814) provenant de la plage de Soumbédioune (Dakar /Sénégal).</p> <p>Sitor Diouf, Momar Ndiaye, Cheikhna Diebakate, Abdoulaye Diop, Birame Ndiaye, Ibrahima Diagne, Cheikh Tidiane Dione, Dame Cisse, Mame Mor Dione, Maoudo Hane, Seydou Ba</p>	1160
<p>Etude de la bioaccumulation des métaux lourds, chrome VI et cuivre II, dans les huitres perlières rayées : <i>Pinctada imbricata radiata</i> (Leach, 1814) provenant de la plage de Soumbédioune par la spectrophotométrie UV-visible.</p> <p>Momar NDIAYE Cheikhna DIEBAKATE Sitor DIOUF Abdoulaye DIO Ibrahima DIAGNE Birame NDIAYE Dam CISSE Cheikh Tidiane DIONE Maoudo HANEMame Mor DIONE, Ousmane KA</p>	1160
<p>Efficacy test of <i>Melaleuca leucadendra</i> and <i>Callistemon viminalis</i> essential oils on in vitro control of a strain of <i>Aspergillus flavus</i> isolated from peanut seeds in Senegal</p> <p>Youssoupha DIOP Abdoulaye FAYE Diégane SARR Atanasse COLY Saliou NGOM</p>	1168
<p>Avantages de l'application de la calcination et de l'acidulation partielle pour la solubilisation du phosphate naturel au Burkina Faso</p> <p>Jacques SAWADOGO Satoshi Nakamura Boubacar TRAORE Mamoudou TRAORE Takashi KANDA Fujio NAGUMO</p>	1176

Conférences plénières

Impacts socio-économique, environnemental et sanitaire de la pandémie de la COVID-19 sur l'exploitation de l'or noir de l'Afrique : Menaces entropiques sévères à l'égard de *Vittelaria paradoxa*

Amoussatou SAKIRIGUI

¹*Laboratoire de Pharmacognosie et des huiles essentielles, Faculté des Sciences et Techniques/Université d'Abomey-Calavi (UAC) Cotonou, République du Bénin.*

²*Laboratoire Kaba de Recherche en Chimie et Applications (LaKReCA), Université Nationale des Sciences, Technologies, Ingénierie et Mathématique (UNSTIM), Abomey, République of Bénin.*

GT2: RESBOA

Résumé :

En raison de leur importance économique, les noix de karité provenant de l'arbre appelé *Vittelaria paradoxa* essentiellement africain, méritent bien l'appellation « l'or noir de l'Afrique ». Au cours des 20 dernières années, les besoins en la précieuse matière grasse provenant de la noix ont augmenté de 600% en raison de son utilisation croissante. Le marché mondial du karité pourrait peser 3,5 milliards \$ d'ici 2028. Sur le plan économique la chaîne de valeur du karité fait travailler directement ou indirectement environ 16 millions d'Africaines [1,2].

En dehors des noix, les connaissances traditionnelles et scientifiques rapportent des propriétés thérapeutiques très intéressantes des différents organes de la plante [3,4]. Aussi L'intérêt du karité dans les agrosystèmes porte sur l'association bénéfique aux cultures vivrières qui donnent incontestablement un meilleur rendement sous son pied. Malheureusement au Bénin, il a été constaté une Baisse des exportations des amandes de karité en 2021. De 66.229,386 tonnes en 2020, l'exportation de karité est passée à 40.654,735 tonnes en 2021, la pandémie de la covid-19 serait à la base de ce fait [5]. Quelles sont les causes directes et indirectes de cette la pandémie sur la filière et les mesures urgentes pour y remédier afin de contribuer à l'autonomisation des femmes?

Abstract:

Because of their economic importance, shea nuts from the tree called *Vittelaria paradoxa*, essentially African, deserve the name "black gold of Africa". Over the past 20 years, the need for the valuable fat from the nut has increased by 600% due to its increasing use. The global shea market could be worth \$3.5 billion by 2028. Economically, the shea value chain directly or indirectly employs about 16 million African women [1,2].

Apart from seeds, traditional and scientific knowledge report very interesting therapeutic properties of the different organs of the plant [3,4]. Also the interest of shea in agrosystems relates to the beneficial association with food crops which undeniably give a better yield under the tree. Unfortunately in Benin, there was a drop in shea kernel exports in 2021. From 66,229.386 tons in 2020, shea exports fell to 40,654.735 tons in 2021, the covid-19 pandemic would be based on this fact [5]. What are the direct and indirect causes of this pandemic on the sector and the urgent measures to remedy them in order to contribute to the empowerment of women?

Références bibliographiques:

- [1] Olodo E., Le karité : source d'opportunités économiques pour les femmes africaines, mais pas que... Agence ecofin numéro 130, 29 avril 2020; Page 2-5.
- [2] Global Shea Alliance (GSA). Une leur d'espoir dans le secteur du karité—l'histoire de Kora, <https://trade4devnews.enhancedif.org/fr/news/une-lueur-despoir-dans-le-...1>
- [3] Guezodje T. G. P. , Agbankpe A. J., Dassou G. H. , Dougnon T. V. , Dicko A. , Yedomonhan H. Cytotoxicity, antimicrobial activities and chemical properties of ten plants from the benin pharmacopoeia used for oral care *IJPSR*, 2021; 12(12): 6642-6652.
- [4] Ojo O., Kengne M.H.K., Fotsing M.C., Mmutlane E.M., Ndinteh D.T., Traditional uses, phytochemistry, pharmacology and other potential applications of *Vitellaria paradoxa* Gaertn. (Sapotaceae): A review; *Arabian Journal of Chemistry* (2021) 14, 103213-103239.
- [5] Yenuoussi F., Bénin: Baisse des exportations des amandes de karité en 2021, <https://leleaderinfobenin.net/info-benin-baisse-des-exportations-des-amandes-de-karite-en>

Physical, hydric, thermal and mechanical properties of earth renders amended with dolomitic lime.

Halidou Bamogo¹, Moussa Ouedraogo¹, Issiaka Sanou¹, Jean Emmanuel Aubert², Younoussa Millogo¹

¹ Université Nazi BONI, Laboratoire de Chimie et Energies Renouvelables (LaCER), UFR/Sciences Exactes et Appliquées, 01 B.P. 1091 Bobo 01, Burkina Faso.

² Université de Toulouse, INSA-Génie Civil, Laboratoire Matériaux et Durabilité de Constructions (LMDC), 135 avenue de Rangueil, F-31 077 Toulouse cedex 4, France.

GT1

Abstract: The global objective of this work was to manufacture resistant, and durable (water resistant) earth renders with good thermal insulation. For this purpose, a medium plastic clayey soil from Kôdédi (Burkina Faso) constituted by kaolinite (62wt.%), quartz (31wt.%) and goethite (2wt.%) was mixed with dolomitic lime up to 6 wt.% to manufacture earth renders. The mineralogical, microstructural, chemical characteristics of dolomitic lime as well as the physical (linear shrinkage, apparent density and accessible porosity), hydric (water absorption test by capillarity and spray test), thermal (thermal conductivity) and mechanical (abrasion resistance, flexural and compressive strengths) properties of the earth renders were evaluated. It appears from these studies that the addition of dolomitic lime induces the formation of calcium silicates hydrates (CSH) and magnesium silicates hydrates (MSH). These CSH and MSH are mainly formed from the pozzolanic reaction between finely ground quartz and weakly silica of kaolinite in basic medium. These formed hydrates improve the physical, hydric, thermal and mechanical properties of earth renders. This improvement is due to the fact that the formed CSH and MSH stick the isolated particles of the soil making them more compact. In view of the good mechanical strength and water resistance as well as the low thermal conductivity, the elaborated earth renders are suitable for habitats in dry climates such as the Sahel.

Keywords: *Earth renders; Dolomitic lime; Calcium silicate hydrate; magnesium silicates hydrates; Physical, hydric and mechanical properties; Thermal comfort.*

References

1. Arabi, M.; Wild, S. Microstructural development in cured soil-lime composites. *J. Mater. Sci.* **1986**, 21, 497-503.
2. Moore, R.K. Lime stabilization: reactions, properties, design and construction. State of the Art Report. N°5, Transportation Research Board National Research Council, Washington, DC, 58p, **1987**.
3. Bamogo, H.; Ouedraogo, M.; Sanou, I.; Ouedraogo, K.A.J.; Dao, K.; Aubert, J.E; Millogo, Y. Improvement of water resistance and thermal comfort of earth renders by cow dung: an ancestral practice of Burkina Faso. *J. Cult. Herit.* **2020**, 46, 42-51.
4. Millogo, Y.; Hajjaji, M.; Ouedraogo, R. *Microstructure and physical properties of lime-clayey adobe bricks. Constr. Build. Mater.* **2008**, 22, 2386-2392.

Changements climatiques : Questions relatives aux axes de recherche en matière d'émission et d'atténuation des émissions de gaz à effet de serre

SABI Kokou

mail: sabikokou@yahoo.fr

GT5

Résumé:

Depuis qu'il est établi clairement que les activités anthropiques ont augmenté sensiblement les concentrations de gaz à effet de serre (GES) dans l'atmosphère entraînant le renforcement de l'effet de serre naturel, la communauté internationale a élaboré la Convention-cadre des Nations Unies sur les changements climatiques (CCNUCC) adoptée à New York, le 19 mai 1992 et le protocole de Kyoto relatif aux GES adopté au Japon le 11 décembre 1997 à la troisième Conférence des Parties (CP-3). L'objectif global de la convention est stabiliser les concentrations de GES dans l'atmosphère. L'Accord de Paris (AP) vise à maintenir l'augmentation de la température moyenne mondiale en dessous de 1.5 °C à l'horizon 2030 pour empêcher toute perturbation anthropique dangereuse au système climatique. Ainsi, les pays Parties sont invités à soumettre périodiquement à la CCNUCC, en plus des communications nationales et rapports biennaux actualisés, leurs Contributions Déterminées au niveau National. Plusieurs études thématiques et techniques s'avèrent nécessaires. Il s'agit entre autres des études : (i) Circonstances nationales ; (ii) Inventaire de Gaz à Effet de Serre (IGES) dans les secteurs de l'énergie, des procédés industriels et utilisation des produits, de l'agriculture, la foresterie et autres affectations des terres (AFAT) et des déchets ; (iii) Atténuation des émissions de GES ; (iv) Evaluation de la vulnérabilité et adaptation aux changements climatiques ; (v) Evaluation des contraintes, lacunes, besoins en ressources techniques, financières, en renforcement des capacités, en transfert de technologie et aide reçue. Pour y parvenir, la communauté scientifique devra jouer sa partition.

La présente conférence-débat qui traite de la question relative aux axes de recherche en matière d'émission et d'atténuation des émissions de GES a pour objectif de permettre à la communauté savante de l'Afrique de l'Ouest de mieux appréhender les problématiques de changements climatiques et de revaloriser les recherches en mettant à la disposition du Groupe Intergouvernemental d'Experts sur l'Evolution du Climat (GIEC) et des décideurs, des données scientifiques fiables pour la prise de bonnes décisions en faveur de la protection du climat.

Mots clés: Système climatique, axes de recherche, atténuation, données scientifiques

Climate Change: Issues Related to Research Lines in Emission and Mitigation of Greenhouse Gas Emissions

Abstract:

Since it has been clearly established that anthropogenic activities have significantly increased the greenhouse gases (GHGs) concentrations in the atmosphere leading to the enhancement of the natural greenhouse effect, the international community has developed the United Nations Framework Convention on Climate Change (UNFCCC) adopted in New York on May 19, 1992 and the Kyoto Protocol on GHGs adopted in Japan on December 11, 1997 at the third Conference of the Parties (CP-3). The overall objective of the Convention is to stabilize GHGs concentrations in the atmosphere. Paris Agreement (PA) aims to keep the increase in global average temperature below 1.5°C by 2030 to prevent dangerous anthropogenic interference with the climate system. Thus, country Parties are invited to periodically submit to the UNFCCC, in addition to national communications and updated biennial reports, their Nationally Determined Contributions. Several thematic and technical studies are necessary. These include studies: (i) National circumstances; (ii) Greenhouse gas inventories (GHGI) in the sectors of Energy, Industrial Processes and Product Use (IPPU), Agriculture, Forestry and Other Land Use (AFOLU) and Waste ; (iii) Greenhouse gas emissions mitigation ; (iv) Vulnerability and adaptation assessment to climate change; (v) Assessment of constraints, gaps, needs in technical and financial resources, capacity building, technology transfer and assistance received. To achieve this, the scientific community will have to play its part.

This conference-debate, which deals with the issue of research areas in the area of emission and mitigation of GHG emissions, aims to enable the scholarly community of West Africa to better integrate into climate change issues and enhance research by providing reliable scientific data to the IPCC and decision-makers for good decision-making in favor of climate protection.

Keywords: Climate system, lines of research, mitigation, scientific data

Bibliography

- 1) Barbara V. Braatz and Michiel Doorn, (2005). Gestion du processus des INGES. www.undp.org/cc
- 2) PNUD (2005). Gestion du processus des INGES. www.undp.org/cc/
- 3) Clapp, Christa, Gregory Briner and Katia Karousakis. 2010. Low-Emission Development Strategies (LEDS): Technical, Institutional, and Policy Lessons. OECD and IEA. Accessible at <http://www.oecd.org/environment/cc/46553489.pdf>

Groupe thématique 1 (*ReMOA*):
Chimie des matériaux naturels et de synthèse

Effet inhibiteur de la pyridoxine hydrochlorée dans la corrosion de l'aluminium en milieu HCl 1M : études gravimétrique et théoriques

YEO Mamadou^{1*}, TIGORI Mougo André², KOUAKOU Victorien³, NIAMIEN Paulin Marius¹

¹Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière (CRM), Université Félix Houphouët Boigny, 22 BP 582
Abidjan 22, Côte d'Ivoire

²UFR Environnement, Université Jean Lorougnon Guédé, BP 150 Daloa, Côte d'Ivoire

³Université Alassane Ouattara, 01BP V 18 Bouaké, Côte d'Ivoire

*Courriel de l'auteur correspondant : mamadouyeo489@gmail.com

L'étude des processus de corrosion et de leur inhibition par les composés organiques est un domaine de recherche très actif. En effet les inhibiteurs organiques sont généralement utilisés en milieu acide en raison de leur efficacité et leur disponibilité. L'objectif de notre travail est d'étudier l'effet inhibiteur de la pyridoxine hydrochlorée (vitamine B6) dans la corrosion de l'aluminium en milieu HCl 1M. La méthode gravimétrique et la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) au niveau B3LYP associée à la base d'orbitale 6-31G(d) ont été utilisées. La molécule s'adsorbe sur l'aluminium selon le modèle de Langmuir modifié et son efficacité inhibitrice augmente avec la concentration mais diminue avec la température. L'efficacité inhibitrice maximale est de 90,19 %. L'isotherme d'Adejo- Ekwenchi a permis de montrer l'existence de la chimisorption et de la physisorption. Les grandeurs thermodynamiques d'adsorption et d'activation ont été déterminées et discutées. Les paramètres descripteurs globaux et locaux calculés ont permis de montrer qu'il y a un bon accord entre les résultats théoriques et expérimentaux. Les études futures porteront sur la caractérisation de la barrière physique.

Mots clés : inhibiteurs, corrosion ; gravimétrie ; fonctionnelle.

Inhibitor effect of pyridoxine hydrochloride in the corrosion of aluminium in HCl 1M environment: gravimetric and theoretical study

The study of corrosion processes and their inhibition by organic compound is a very active field of research. Indeed, organic inhibitors are generally used in acidic environments because of their effectiveness and availability. The objective of our work is to study inhibitor effect of pyridoxine hydrochloride in the corrosion of aluminium in HCl 1M environment. The gravimetric method and the Density Functional Theory (DFT) at B3LYP level with 6-31G (d) were used. The molecule adsorbs on copper according to the Langmuir modified adsorption isotherm and its inhibition efficiency increases with concentration and decreases with temperature. The maximum inhibition efficiency is 90,19 %. Adejo-Ekwenchi isotherm was used to distinguish between physisorption and chemisorption. The thermodynamic adsorption and activation parameters were also determined and discussed the global and local reactivity parameters of the molecule showed a good agreement between the theoretical and experimental data. Future studies will focus on the characterization of the physical barrier.

Keywords : Inhibitor, corrosion, gravimetric, functional

Introduction

La corrosion est une dégradation chimique d'un matériau et l'altération de ses propriétés par réaction chimique avec le milieu environnant. C'est un phénomène qui peut affecter de nombreuses structures en les rendant inutilisables pour une application prévue, particulièrement celles qui sont constituées de matériaux métalliques.

L'aluminium est un métal qui n'est pas aussi épargné par ce phénomène. En effet, l'aluminium est très utilisé dans l'industrie à cause de ses remarquables propriétés physiques, mécaniques, anticorrosion et biologiques [1]. Au cours de son utilisation il est exposé à l'action de milieux agressifs [2,3] tels que les solutions acides qui agissent comme agents corrosifs. Pour réduire ce phénomène, on utilise les inhibiteurs de corrosion notamment les molécules organiques. Plusieurs travaux [4-6] ont montré que les composés organiques, inhibiteurs de la corrosion contiennent des hétéroatomes (S, P, O, N) et/ou des liaisons π y compris tous les cycles aromatiques dans leur structure moléculaire peuvent offrir des électrons actifs spéciaux ou des orbitales vacantes capable d'accepter ou de donner des électrons. Dans un souci de préservation de l'environnement, la mise en solution d'inhibiteurs organiques non toxiques et biodégradable est la méthode la plus utilisée aujourd'hui.

L'adsorption d'un composé organique étant liée à sa structure moléculaire, l'utilisation des méthodes de chimie quantique s'avèrent plus que nécessaire pour atteindre les paramètres descripteurs des molécules. Plusieurs travaux [7,8] montrent les corrélations entre la réactivité chimique des molécules

organiques et leurs paramètres descripteurs. Les calculs théoriques [9] sont aujourd'hui un outil indispensable pour la maîtrise des structures moléculaires, les propriétés physico-chimiques de la matière et la compréhension des interactions métal-molécule.

L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet inhibiteur de la pyridoxine hydrochlorée (vitamine B6) dans la corrosion de l'aluminium en milieu HCl 1M. Ce travail a été réalisé en utilisant la technique de la perte de masse et la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT).

2. Matériel et méthodes

2.1 Molécule inhibitrice

La structure moléculaire de la pyridoxine hydrochlorée est donnée par la figure 1

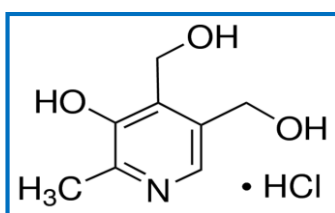


Figure 1 : 4,5-Bis (hydroxyméthyl)-2-méthyl-3-pyridinol

2.2 Technique de la perte de masse

Cette technique est réalisée sur des échantillons d'aluminium, de surface S. Ces échantillons sont immergés dans la solution d'acide chlorhydrique de concentration 1M maintenue à des températures qui varient de 25°C à 50°C pendant 1h, puis nous avons mesuré la différence de masse des échantillons avant et après chaque essai. Au cours de cette étude nous avons utilisé un bain thermostaté, une balance, une étuve et un thermomètre.

La vitesse de corrosion (W), l'efficacité inhibitrice (EI) du composé organique sont évalués respectivement] par les relations suivantes :

$$W = \frac{m_2 - m_1}{S \cdot t} \quad (1) \quad EI(\%) = \frac{w_0 - w}{w_0} \times 100 \quad (2)$$

W_0 et W (exprimés en $\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$) sont respectivement la vitesse de corrosion en absence et en présence de la molécule étudiée, S est la surface totale de l'échantillon d'aluminium et t est la durée d'immersion.

2.3 Théorie fonctionnelle de la densité (DFT)

La théorie fonctionnelle de la densité basée sur la chimie quantique est une méthode théorique que nous avons utilisée dans ce travail. Les calculs permettent d'élucider la relation entre l'efficacité d'inhibition des molécules et leurs propriétés électroniques. D'abord la première étape consiste à réaliser le schéma moléculaire du composé à l'aide du logiciel Gaussview au niveau B3LYP, avec la base 6-31G (d).

En effet la fonctionnelle B3LYP avec les 3 échanges du paramètre de Becke : Lee, Yang, Parr, fournit de bons résultats avec beaucoup de précisions [10]. Ensuite les calculs des descripteurs moléculaires globaux ont été effectués à partir du logiciel Gaussian 03[11]. La structure optimisée du composé étudié est donnée par la figure 2.

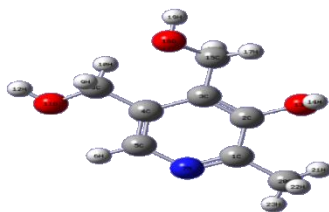


Figure 2 : Optimisation de la pyridoxine hydrochlorée (PHC) réalisée avec B3LYP/6-31G (d)

Les calculs qui ont été réalisés en phase gazeuse[12,13] ont permis de déterminer ; l'énergie de la plus haute orbitale occupée (E_{HO}), l'énergie de la plus basse orbitale vacante (E_{BV}), le gap d'énergie (ΔE), l'électronégativité (χ), la dureté (η), la mollesse σ , l'indice d'électrophilicité (ω) et la fraction d'électrons transférés (ΔN).

$$\Delta E = E_{BV} - E_{HO} \quad (3)$$

$$I = -E_{HO} \quad (4)$$

$$A = -E_{BV} \quad (5)$$

$$\chi = -\mu_p = \left(\frac{\partial E}{\partial N} \right)_{V(r)} \quad (6)$$

$$\chi = \frac{I+A}{2} = -\frac{E_{BV} + E_{HO}}{2} \quad (7)$$

$$\eta = \frac{I-A}{2} = \frac{E_{BV} - E_{HO}}{2} \quad (8)$$

$$\sigma = \frac{1}{\eta} = \frac{2}{I-A} \quad (9)$$

$$\omega = \frac{\mu_p^2}{2\eta} = \frac{(I+A)^2}{4(I-A)} \quad (10)$$

$$\Delta N = \frac{\phi_{Al} - \chi_i}{2(\eta_{Al} + \eta_i)} \quad (11)$$

Avec $\phi_{Al} = 4,28 \text{ eV}$ [14] et $\eta_{Al} = 0$ [14]

3. Résultats et discussion

3.1 Analyse des résultats expérimentaux

Les figures 3 et 4 montrent respectivement l'évolution de la vitesse de corrosion de l'aluminium en fonction de la température et de la concentration en inhibiteur et de l'évolution de l'efficacité inhibitrice en fonction de la concentration de la pyridoxine hydrochlorée (PHC).

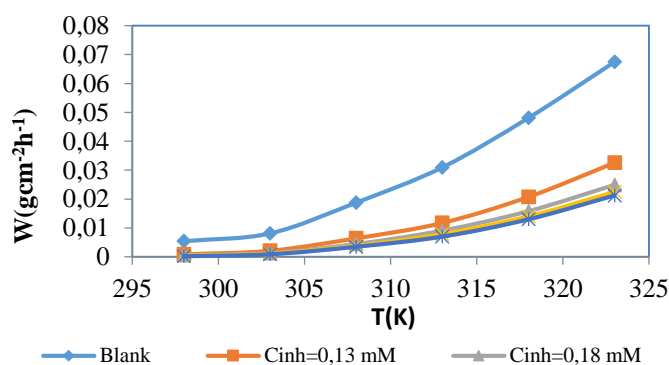


Figure 3 : vitesse de corrosion en fonction

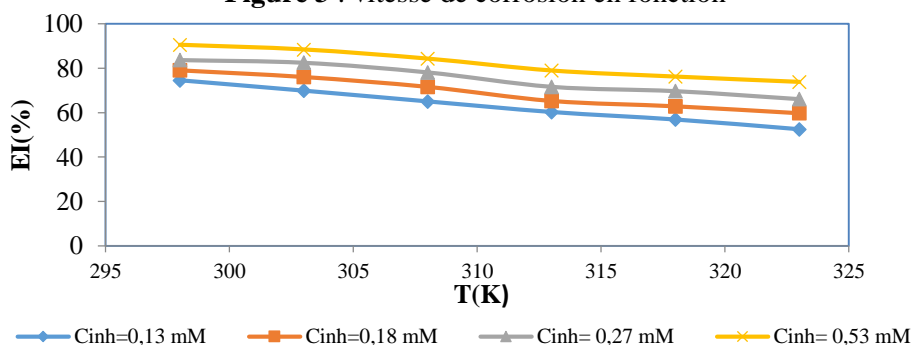


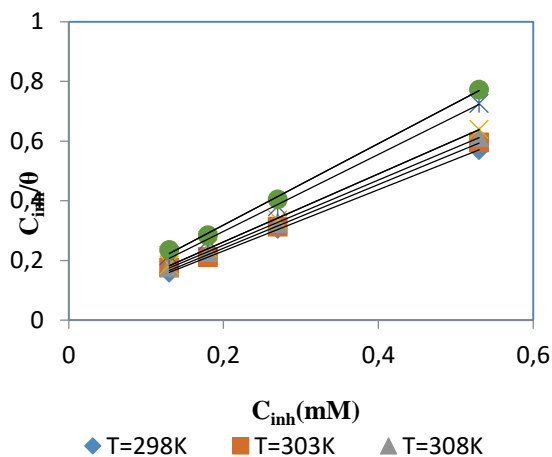
Figure 4 : EI en fonction de C_{inh} de la température et de C_{in}

Ces figures révèlent que la vitesse de corrosion de l'aluminium augmente avec la température quand l'efficacité inhibitrice diminue avec celle-ci. Cependant la vitesse de corrosion diminue lorsque la concentration en pyridoxine hydrochlorée (PHC) augmente. Cette diminution de la corrosion traduit l'adsorption de la molécule à la surface de l'aluminium. Ainsi, lorsque la concentration en inhibiteur évolue, une couche protectrice se fixe sur l'aluminium en l'isolant du coup du milieu agressif.

3.2 Isotherme d'adsorption

Dans le but de déterminer la relation entre la quantité de la pyridoxine adsorbée à la surface de l'aluminium et leur concentration dans le milieu corrosif en contact avec le matériau à une température constante, nous avons testé une série de modèles d'isothermes plus précisément les isothermes de Langmuir, Freundlich, El-Awady et Flory-Huggins. Toutefois, celle qui est plus appropriée à l'étude du comportement de la pyridoxine hydrochlorée à la surface du métal est l'isotherme de Langmuir. La figure 5 illustre ce modèle et la tableau 1 donne les paramètres des droites obtenues.

Tableau 1. Paramètres des droites de Langmuir



T(K)	R ²	Pente
298	0,9996	1,0235
303	0,9999	1,0303
308	1,0000	1,0522
313	1,0000	1,1494
318	0,9995	1,2486
323	0,9993	1,2951

Figure 5 : Variation de C_{inh}/θ en fonction de C_{inh} de PHC à différentes températures

L'examen du tableau 1 montre que les pentes des droites obtenues pour le composé étudié sont supérieures à l'unité. Ces observations indiquent que l'adsorption de sur l'aluminium n'obéit pas rigoureusement au modèle de Langmuir. Cependant le modèle le plus approprié qui prend en compte les interactions entre les particules adsorbées et l'occupation de plus d'un site par molécule est l'isotherme de Villamil ou de Langmuir modifié. Ce modèle a pour expression :

$$\frac{C_{inh}}{\theta} = \frac{n}{K_{ads}} + nC_{inh} \quad (12)$$

Pour accéder à la nature et aux domaines de températures de l'adsorption de l'inhibiteur, nous nous référons à l'isotherme d'Adejo-Ekwenchi [16]. Cette isotherme a pour équation :

$$\log\left(\frac{1}{1-\theta}\right) = \log K_{AE} + b \log C_{inh} \quad (13)$$

La figure 6 représente ce modèle.

Concernant la vitamine B6, le paramètre b à partir des pentes des droites diminue de 298 K à 313 K indique que PHC s'adsorbe sur l'aluminium de manière physique. De 318 K à 323 K, le paramètre b

est constant cela montre que l'adsorption de la vitamine B6 se fait de façon chimique dans cette plage de températures.

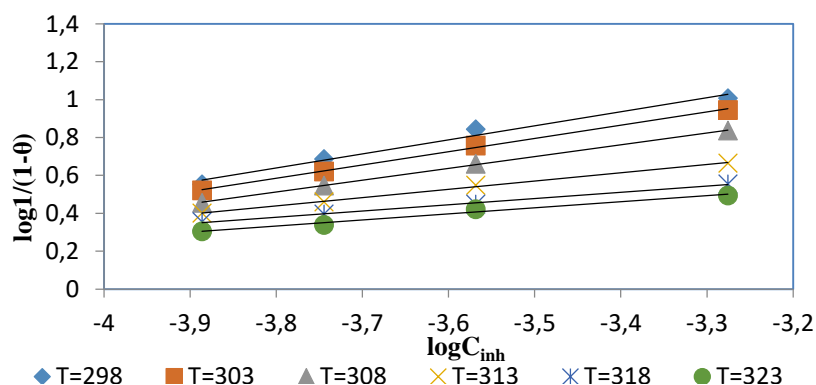


Figure 6 : Représentation de $\log 1/(1-\theta)$ en fonction de $\log C_{inh}$ pour la vitamine B6

3.3 Grandeurs thermodynamiques d'adsorption et d'activation

Les grandeurs thermodynamiques d'adsorption permettent d'interpréter le comportement du PHC à la surface de l'aluminium. En effet la variation d'enthalpie libre standard d'adsorption (ΔG_{ads}^0) permet de savoir si le processus d'adsorption est spontané ou pas. La variation de l'enthalpie standard d'adsorption (ΔH_{ads}^0) indique si le processus d'adsorption est exothermique ou endothermique. Quant à la variation d'entropie standard d'adsorption (ΔS_{ads}^0), elle indique s'il y a une augmentation ou une diminution du désordre lors du processus d'adsorption de la molécule d'inhibiteur sur l'aluminium. La relation ci-dessous permet de déterminer la variation d'enthalpie libre standard d'adsorption :

$$\Delta G_{ads}^0 = -RT \ln(55,5 K_{ads}) \quad (14)$$

55,5 : concentration de l'eau dans 1litre de solution corrosive (en mol.L⁻¹)

La variation d'enthalpie libre standard d'adsorption ΔG_{ads}^0 , la variation d'enthalpie standard d'adsorption ΔH_{ads}^0 et la variation d'entropie standard d'adsorption ΔS_{ads}^0 sont liées par la relation de Gibbs :

$$\Delta G_{ads}^0 = \Delta H_{ads}^0 - T \Delta S_{ads}^0. \quad (15)$$

La figure 7 donne l'évolution de la variation d'enthalpie libre standard d'adsorption en fonction de la température et permet de calculer ΔH_{ads}^0 et ΔS_{ads}^0

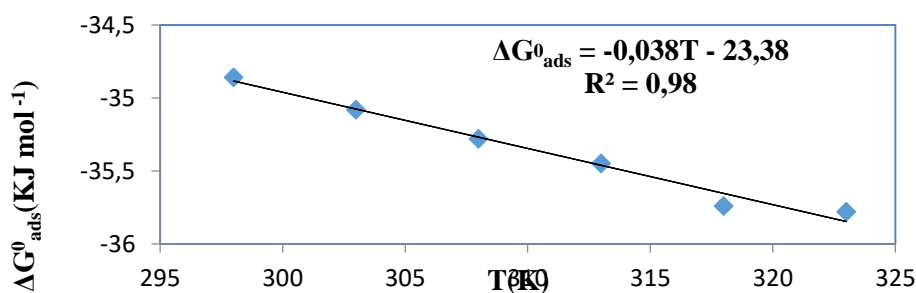


Figure 7: Variation de ΔG_{ads}^0 en fonction de la température pour la pyridoxine hydrochlorée

La droite obtenue a permis de déterminer les valeurs de ΔH_{ads}^0 (ordonnée à l'origine) et de $-\Delta S_{ads}^0$ (pente de la droite). Les valeurs d'adsorption sont consignées dans le tableau.

Tableau 2 : Valeurs des grandeurs thermodynamiques d'adsorption

T(K)	K _{ads} (M ⁻¹)	ΔG_{ads}^0 (kJmol ⁻¹)	ΔH_{ads}^0 (kJmol ⁻¹)	ΔS_{ads}^0 (Jmol ⁻¹ K ⁻¹)
298	23041	-34,9	-23,38	38,00
303	19646	-35,1		
308	16077	-35,3		
313	14881	-35,4		
318	13298	-35,7		
323	10929	-35,8		

Les valeurs de ΔG_{ads}^0 sont comprises entre -20 kJ/mol et -40 kJ/mol, selon la littérature [17], la chimisorption et la physisorption existent dans cet intervalle. Cela traduit l'existence des deux modes d'adsorption pour la pyridoxine hydrochlorée. La valeur d'enthalpie standard d'adsorption ΔH_{ads}^0 est négative, cela traduit le caractère exothermique de l'adsorption de l'inhibiteur sur l'aluminium [18].

La valeur d'entropie standard d'adsorption ΔS_{ads}^0 est positive, traduisant ainsi une augmentation du désordre lors de l'adsorption des molécules sur l'aluminium. Ce désordre [18] est lié à la désorption des molécules d'eau.

L'énergie d'activation attachée à la dissolution du cuivre est reliée à la vitesse de corrosion par une relation de type Arrhenius et la variation d'enthalpie d'activation ΔH_a^* et d'entropie d'activation ΔS_a^* sont calculés en utilisant l'équation des états de transition d'Eyring (équation 17) :

$$W = A \cdot \exp\left(-\frac{E_a}{R.T}\right) \quad (16) \qquad W = \frac{R.T}{h} \exp\left(\frac{\Delta S_a^*}{R}\right) \cdot \exp\left(-\frac{\Delta H_a^*}{R.T}\right) \quad (17).$$

Les valeurs de ces paramètres sont consignées dans le tableau 3

Tableau 3. Paramètres d'activation

C _{inh} (mM)	E_a (kJmol ⁻¹)	ΔH_a^* (kJ. mol ⁻¹)	ΔS_a^* (J.mol ⁻¹ .K ⁻¹)
Témoin	81,05	78,60	-24,20
0,13	99,19	96,70	26,00
0,18	106,39	103,90	47,70
0,27	113,03	110,60	67,10
0,53	120,75	118,20	89,10

L'analyse des valeurs indique que les énergies d'activation en présence de l'inhibiteur sont supérieures à la valeur obtenue avec le témoin (C_{inh} = 0). Cela signifie que le mécanisme d'activation de chaque inhibiteur est influencé par la physisorption.

Les valeurs des variations de l'enthalpie d'activation (ΔH_a^*) sont positives, ce qui traduit le caractère endothermique de la réaction de dissolution de l'aluminium. Les valeurs positives et élevées des variations de l'entropie d'activation (ΔS_a^*) montrent qu'il y a formation d'un complexe.

4. Analyse des paramètres théoriques de la molécule

Les paramètres globaux de la molécule calculés à partir de la DFT/6-31G(d) sont consignés dans le tableau 4.

Tableau 4. Paramètres descripteurs globaux

Paramètres	Vitamine B6
E_{HO} (eV)	-6,114
E_{BV} (eV)	-0,648
ΔE (eV)	5,466
Moment dipolaire $\mu(D)$	2,1459
Energie d'ionisation I (eV)	6,114
Affinité électronique A (eV)	0,648
Electronégativité χ (eV)	3,381
Dureté globale η (eV)	2,733
Mollesse globale σ (eV) ⁻¹	0,366
Fraction d'électrons transférés ΔN	0,164
Indice d'électrophilicité ω	2,091
Energie totale TE (Ha)	-591,86

La valeur E_{HO} indique la capacité d'un composé organique à donner des électrons à la surface du métal. La valeur de E_{HO} dans notre étude indique que PHC peut donner des électrons à l'aluminium augmentant ainsi sa capacité à inhiber la corrosion du métal, en formant une barrière inhibitrice. La molécule étudiée a une faible valeur de E_{BV} donc elle est susceptible d'accepter des électrons du métal [19].

La valeur faible du gap d'énergie obtenu (ΔE) révèle que la molécule est réactive. En effet lorsque la valeur ΔE d'une molécule est faible, cela favorise les échanges d'électrons entre cette molécule et le métal parce qu'il est plus facile de retirer un électron de l'orbitale HO vers BV. Les valeurs de ces indicateurs confirment les valeurs élevées de l'efficacité inhibitrices obtenues expérimentalement.

L'électronégativité est très utile dans la théorie de la réaction chimique. Dans notre étude, l'électronégativité (χ) du composé étudié montre ainsi que l'aluminium possède la meilleure capacité d'attraction des électrons. Dans ce cas, un mouvement des électrons de l'inhibiteur vers l'aluminium reste possible. Cela signifie que la bonne performance de cette molécule est liée au transfert d'électrons de ce composé au métal.

La molécule étudiée possède une grande valeur de mollesse (S) et une faible valeur de dureté (η) : ce qui favorise son aptitude à interagir avec une surface métallique donc à inhiber la corrosion de l'aluminium [20]. De plus, pour cette vitamines, la dureté $\eta > 0$, et l'énergie TE < 0 , ce qui signifie que le transfert de charge de l'inhibiteur vers le métal est énergétiquement favorable [21]. La valeur de l'indice d'électrophilie (w) et celle des électrons transférés (ΔN) sont élevés, ce qui montre que la molécule a la capacité de recevoir des électrons du métal [22]. Ces résultats justifient les données expérimentales.

Les fonctions de Fukui ont permis d'identifier les atomes dans l'inhibiteur qui peuvent subir, soit une attaque électrophile, soit une attaque nucléophile [23-25].

- Attaque nucléophile : $f_k^+ = [q_k(N+1) - q_k(N)]$ (18)

- Attaque électrophile : $f_k^- = [q_k(N) - q_k(N-1)]$ (19)

- Dual descripteur : $\Delta f_k(r) = f_k^+ - f_k^-$ (20)

Tableau 5. Indices de Fukui et de mollesse de la pyridoxine hydrochlorée

Atome	$q_k(N-1)$	$q_k(N)$	$q_k(N+1)$	f_k^-	f_k^+	$\Delta f_k(r)$
1 C	0,236069	0,288969	0,353729	-0,0529	-0,06476	0,01186
5 C	-0,043764	-0,008991	0,097297	-0,034773	-0,106288	0,071515
18 O	-0,618357	-0,61487	-0,610264	-0,003487	-0,004606	0,001119
20 C	-0,495424	-0,56803	-0,585012	0,072606	0,016982	0,055624

$\Delta f_k(r)$. L'atome C(20) qui possède la plus grande valeur de f_k^- est le site probable pour les attaques électrophiles.

5. Conclusion

L'efficacité inhibitrice de la pyridoxine hydrochlorée dépend de la température et de la concentration. Elle s'adsorbe sur l'aluminium selon l'isotherme de Langmuir modifié. Les grandeurs thermodynamiques d'adsorption et d'activation indiquent que le processus est spontané et dominé par la physisorption. Les paramètres de réactivité globale confirment la bonne efficacité d'inhibition de la molécule montrant ainsi l'accord entre les résultats théoriques et expérimentaux. Les paramètres de réactivité local ont permis de déterminer les sites probables d'attaques électrophiles et nucléophiles.

5. Bibliographie

- [1] Techno sans frontière, le cuivre dans tous ses états, Technologie, 2008, 155,8-13.
- [2] Ho, C. E., Chen, W. T. & Kao, C. R.,(2001), *Journal of electronic materials*, **30**, 379–385.
- [3] C. B. Breslin, D. D. Macdonald, 1998,*Portugaliae Electrochimica Acta*, **44**, 643-651.
- [4] Z. El Adnani, M. Mcharfi, M Sfaira, M. Benzakour, A. T. Benjelloun, M. Ebu, Touhami. (2013). *Corrosion Science*, **68**, 223-230.
- [5] A. Popova, M. Christov, A. Zwetanova,2007, *Corrosion Science*. **49**, 2131-2143.
- [6] Juan Radilla Guillermo E. Negrón-Silva, Manuel Palomar-Pardavé, Mario Romero-Romo· Marcelo Galván, 2013, *Electrochimica Acta*, **112**,577-586.
- [7] N.A. Wazzan, F. M. Mahgoub,2014, *Open Journal of Physical Chemistry*, **4**, 6-14.
- [8] N. O. Eddy, H. Momoh-Yahaya, E. E. Oguzie,2015, *Journal of Advanced Research*, **6**, 203-217.
- [9] Garnet Kin-Lic Chan, A fresh,1999, *The journal of Chemical. Physics*. **110**, 4710-4723
- [10] A. D. Becke, Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange, *Journal of Chemical Physics*, **1993**, 98, 1372-1377
- [11] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, J. A. Montgomery, Jr., T. Vreven, K. N. Kudin, J. C. Burant, J. M. Millam, S. S. Iyengar, J. Tomasi, V. Barone, B. Mennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, M. Klene, X. Li, J. E. Knox, H. P. Hratchian, J. B. Cross, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, P. Y. Ayala, K. Morokuma, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, V. G. Zakrzewski, S. Dapprich, A. D. Daniels, M. C. Strain, O. Farkas, D. K. Malick, A. D. Rabuck, K. Raghavachari, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, Q. Cui, A. G. Baboul, S. Clifford, J. Cioslowski, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, C. Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P. M. W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, C. Gonzalez, and J. A. Pople, Gaussian 03, Revision B.05, Gaussian, Inc., Pittsburgh PA, **2003**.
- [12] R. S. Mulliken,1955, *Journal of Chemical Physics*, **23**, 1833-1840.
- [13] T. Koopmans,1934,*Physica* ,**1**, 104-113.
- [14] A Kokalj; N Kovacevic. *Chem. Phys. Lett.*,(2011), 507(1-3), 181-184 .
- [15] Villamil R F V, Corio P, Rubin J C, Agostinho S M L, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **1999**, 472,112-116.
- [16] S O Adejo; M. M Ekwenci. IOSR. *Journal of Emerging Trends in Engineering and Applied Sciences*,2014, 8(5), 201 – 205.
- [17]EE Oguzie; YLi; FH Wang. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2007, 310(1), 90-98
- [18]W. Durmie, R. D. Marco, A. Jefferson, and B. Kinsella. *Journal of Electrochemical Society*. 1999,146(5): 1751-1756.
- [19] A. Popova, M. Christov, T. Deligeorgiev, Influence of the Molecular Structure on the Inhibitor Properties of Benzimidazole Derivatives on Mild Steel Corrosion in 1 M Hydrochloric Acid, *CORROSION*. 2003;59(9):756-764.
- [20]Chakraborty, T., Gazi, K. and Ghosh, D.C., Computation of the Atomic Radii through the Conjoint Action of the Effective Nuclear Charge and the Ionization Energy. *Molecular Physics* .2010,108(16): 2081-2092
- [21] V. Hempriya, K. Parameswari, and S. Chitra. Anticorrosion properties of benzothiazole derivatives for mild steel in 1 M H2SO4 Solution. *Chemical Science Review and Letters*. 2014, 3, 824-835.
- [22] Lukovits, I.,Kalman,E.F., Corrosion Inhibitors—Correlation between Electronic Structure and Efficiency, *Corrosion (NACE)*, 2001,57(1): 3-8.
- [23] Lee ,C, Yang W and Parr RG. *Journal of Molecular structure: Theochem.*,1988 ,163, 305-313.
- [24] Parr R.G. and Yang, W.*Journal of the American Chemical society*. 1984,106(14): 4049–4050.
- [25] Yang W, Mortier WJ . *Journal of the American Chemical society*.1986, 108(19): 5708–5711.

Caractérisation physico-chimique des phosphates naturels de Kotchari pour une meilleure utilisation en agriculture

Jean Baptiste ZOUNGRANA¹, Corneille BAKOUAN^{1,2,*}, Brahima SORGHO¹, Dimanche Régie OUEDRAOGO¹, Boubié GUEL¹

¹Université Joseph KI ZERBO/U.F.R – SEA, Laboratoire de Chimie Moléculaire et des Matériaux (LCMM)/Equipe de Chimie Physique et Electrochimie, 03 BP 7021 Ouaga 03, Burkina Faso

²Université de Ouahigouya, Unité de Formation en Sciences et Technologies, 01 BP 346 Ouahigouya 01

*Auteur correspondant : bakouancorneille@gmail.com

Groupe thématique : Chimie des matériaux

Résumé

Le phosphore (P) est l'un des éléments nutritifs essentiels à la croissance et au développement des cultures. Sa déficience constitue l'une des principales contraintes à l'augmentation des rendements des cultures [1]. Il existe de larges sources de phosphore pouvant contribuer à la résolution du problème de la carence de phosphore assimilable dans les sols [2]. Au Burkina Faso les gisements de phosphates naturels situés dans la région de l'est ont connu peu d'investigations portées sur sa caractérisation permettant d'évaluer leur potentialité dans le domaine agricole. Cette étude sur phosphates naturels (PN) de Kotchari pourrait apporter des informations sur leur composition et contribuer à l'amélioration de leur solubilité dans les sols. La caractérisation des PN de Kotchari a révélé la présence des phases minérales telles que la carbonate-fluorapatite (francolite), pentacalcium tris(phosphate) hydroxyde (hydroxyapatite) et oxyde de silicium -alpha (Quartz). Les résultats des essais d'application ont montré que, les phosphates de Kotchari ont un effet à partir d'une dose de 1g de PN/ Kg de sols pour une granulométrie inférieure à 250 µm sur les sols acides à pH ≤ 5.

Mots-clés : phosphates naturels, solubilité, granulométrie.

Abstract

Phosphorus (P) is one of the essential nutrients for crops growth and development. Its deficiency is one of the main constraints to increasing yields of crops [1]. there are large sources of phosphorus that can help solve the problem of phosphorus deficiency assimilable in soils [2]. In Burkina Faso, the natural phosphate deposits located in the eastern region have known few investigations carried on its characterization allowing to evaluate their potentiality in the agricultural fields. This study on natural phosphates (NP) of Kotchari could bring information on their composition and contribute to improving their solubility in soils. The characterization of Kochari (NP) has reveals the presence of mineral phases such as carbonate-fluorapatite (francolite), pentacalcium tris (phosphate) hydroxide (hydroxyapatite) and -alpha silicon oxide (Quartz). Test results of application have shown that the Kotchari phosphates have an effect from a dose of 1g of PN Kg of soils for a grain size less than 250 µm on acid soils at pH ≤ 5.

Keywords: natural phosphates, solubility, particle size.

1 Introduction

Le phosphate naturel désignant un mélange de minéraux, majoritairement constitué de minéraux phosphatés, est un minerai à une large et importante utilisation dans divers domaines à savoir l'agriculture, la chimie, industriel...etc. Il est considéré comme la principale source des engrais phosphatés produits dans le monde et est utilisé pour la production de certains produits comme de l'acide phosphorique, des désinfectants, de biomatériaux et d'autres produits alimentaires etc. Le Burkina Faso dispose d'importantes réserves de phosphates situés dans la région de l'Est, à savoir les réserves d'Arly,

Kotchari et Aloud Djouana [3]. Le gisement de Kotchari a fait l'objet de notre étude car il est le plus important et seul accessible présentement [4,5]. Les phosphates naturels (PN) de Kotchari sont utilisés depuis longtemps dans le domaine agricole mais ils présentent une faible solubilité dans les sols alcalins [6]. Pour l'amélioration de la productivité agricole les phosphates de Kotchari sont utilisés comme amendement et ont montré leur efficacité dans le phosphocompostage ou par combinaison d'autre engrais [7,8]. Pour contribuer à l'améliorer l'exploitation et l'utilisation des PN de Kotchari plusieurs travaux antérieurs ont permis de déterminer certaines phases minérales et une composition chimique ainsi que certaines de leur propriété physico-chimique. Notre travail consiste à apporter une contribution à la valorisation de ces phosphates par une caractérisation physico-chimique de ces phosphates afin d'apporter plus d'informations permettant améliorer leur usage dans domaine l'agriculture.

2 matériel et méthodes

Les échantillons sont prélevés dans trois point différents de la zone et sont référencés (SEPB001, SEPB002, SEPB003) en fonction de leur position (x, y, z) de prélèvement (figure 1).

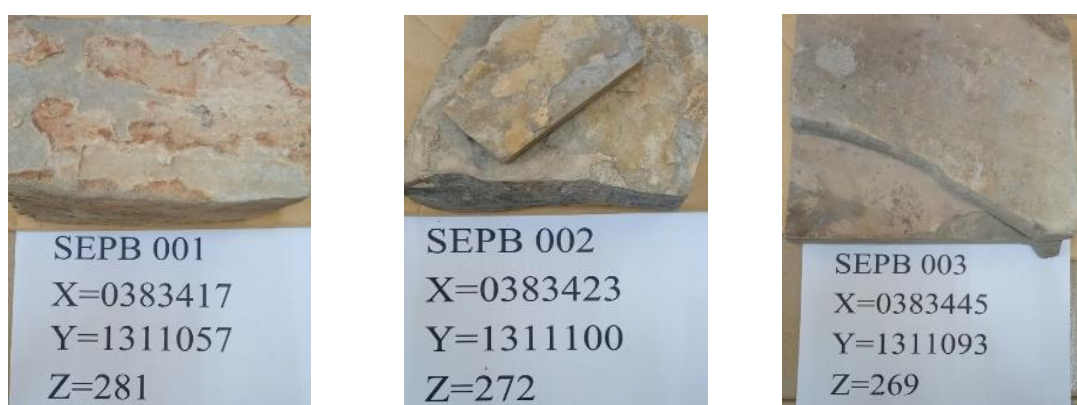


Figure 1 : Image des échantillons de Kotchari de trois points différents de prélèvement.

Les échantillons prélevés ont subi les opérations unitaires telles que le concassage manuel en morceaux, un broyage des morceaux dans un broyeur et le tamisage de la poudre de chaque échantillon en quatre fractions granulométriques. Les échantillons réduits en fractions granulométriques chacun ($T1 \leq 100 \mu\text{m}$; $100 \mu\text{m} < T2 \leq 250 \mu\text{m}$; $250 \mu\text{m} < T3 \leq 500 \mu\text{m}$ et $500 \mu\text{m} < T4 \leq 1\text{mm}$) sont incorporés à la terre à des doses de **0,5 ; 1 ; 1,5 et 2 g** par kg de sol (terre sèche). Les sols ont été prélevés dans l'horizon de la surface allant de 0 à 20 cm de profondeur du sol. Les mélanges (sols + PN) préparés ont été référencés $S_i^k(X)$ avec i, le type de PN ; k, la quantité de PN ajouté et X, la granulométrie de PN. Les mélanges sont introduits dans des pots en plastique d'environ 5 dm³ dont le fond est percé de plusieurs trous.

Caractérisation des phosphates

Une analyse physico-chimique a été réalisée afin de déterminer le taux d'humidité (TH) renseigne sur l'état d'hydratation d'un échantillon ; la perte au feu (PAF) est la perte de masse qui résulte de l'échauffement d'un matériau à 1000°C et le pH donne des informations sur la nature acido-basique des espèces présentes à la surface des phosphates.

L'analyse chimique élémentaire a été effectuée à l'aide d'un spectromètre de fluorescence de rayons X (XRF- PANalytical), après une mise en solution par voie sèche de 1g de phosphate, par 10g de tétraborate de lithium fondu à 1065 °C dans un creuset platine.

Le diffractogramme des rayons X de la poudre de phosphate a été obtenu à l'aide d'un montage Bragg-Brentano dans un diffractomètre à monochromateur arrière en graphite, fonctionnant sous une tension de 40kV et une intensité de 50 mA avec une anticathode en cobalt, en utilisant la radiation $K\alpha$ du cuivre ($\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$).

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IR-TF) a été réalisé en utilisant des pastilles de KBr contenant 2% en poids de poudre de phosphate et le spectre infrarouge a été enregistré dans le domaine 400-4000 cm⁻¹, avec une résolution de 4 cm⁻¹.

La semi-quantitative des différentes phases minérales a été faite en couplant les résultats de la diffraction des rayons X et de l'analyse chimique. Ce couplage a permis d'évaluer les quantités relatives des minéraux contenus dans les phosphates.

$$T(a) = \sum Mi \times Pi(a)$$

T (a) : teneur de l'oxyde « a » dans l'échantillon, Mi : teneur (%) du minéral « i » dans l'échantillon, Pi (a) : proportion de l'oxyde « a » dans le minéral « i » (cette proportion est déduite de la formule idéale attribuée au minéral « i »)

3 Résultats et discussion

Le tableau 1 regroupe les valeurs des différents paramètres à chaque échantillon de phosphate. Les valeurs du taux d'humidité montrent que les échantillons sont peu hydratés, cela explique le caractère non hygroscopique des phosphates, donc contiendrait moins de minéraux gonflants. Les résultats de la perte au feu montrent des faibles valeurs en pourcentage indiquant une faible proportion de minéraux carbonatés et silicatés dans ces échantillons due à leur déshydroxylation et leur décarboxylation sous forme gazeuse (CO₂, H₂O ...) à 1000°C. Les pH traduisent un caractère légèrement acide voir neutre des échantillons, indiquant la faible présence des espèces basiques en particulier les ions carbonates et hydroxydes à la surface des phosphates. Ce qui peut entraîner une faible solubilité des phosphates dans les sols alcalins.

Tableau 1 : Paramètres physico-chimiques des échantillons

Echantillons	TH (%)	PAF (%)	pH
SEPB0001	1,31 ± 0,05	3,42 ± 0,02	6, 31 ± 0,18
SEPB0002	1,34 ± 0,04	3,65 ± 0,02	6,35 ± 0,08
SEPB0003	1,20 ± 0,02	2,82 ± 0,01	6,47 ± 0,10

Avec : **TH** : Taux d'Humidité, **PAF** : Perte au feu.

Le tableau 2 présente les résultats de l'analyse chimique élémentaire des phosphates de Kotchari. De l'analyse de ces données, il ressort que l'oxyde de calcium (CaO), le pentoxyde de phosphore (P₂O₅) et l'oxyde de silicium (SiO₂) sont les principaux constituants majeurs des PN de Kotchari. Les phosphates de Kotchari présentent un intérêt économique important en raison de sa forte teneur en P₂O₅ environ 28%. Les échantillons *SEPB002* et *SEPB003* ont une teneur en P₂O₅ supérieure à la teneur normale minimum demandée (28 % de P₂O₅) pour la production d'engrais phosphatés [2]. La teneur en silice (SiO₂) présente dans les échantillons *SEPB001*, *SEPB002* et *SEPB003* (respectivement 25,69% ; 20,52% et 19,93%) pourrait pénaliser l'application directe de ces minerais de phosphate dans l'agriculture car ils deviennent dur et peu soluble dans l'eau.

Tableau 2 : composition chimique des phosphates de Kotchari (% massique)

Éléments	SiO ₂ %	Al ₂ O ₃ %	Fe ₂ O ₃ %	CaO %	MgO %	Na ₂ O %	K ₂ O %	P ₂ O ₅ %	TiO ₂ %	SO ₃ %	ZrO ₂ %	F %
SEPB001	25,69	3,35	2,77	35,97	0,28	0,12	0,36	26,85	0,16	0,076	0,029	1,76
SEPB002	20,52	4,00	2,20	38,78	0,17	0,12	0,17	29,17	0,17	0,051	0,046	2,26
SEPB003	19,92	2,17	1,54	41,33	0,21	0,13	0,15	30,74	0,13	0,046	0,044	2,63

L'analyse du diffractogramme des phosphates de Kotchari (figure 2 à 4) montre qu'ils sont composés principalement de carbonate-fluorapatite (francolite) : $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_{2,5}(\text{CO}_3)_{0,5}\text{F}$; de pentacalcium tris(phosphate) hydroxyde (hydroxylapatite) : $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$; de l'oxyde de silicium alpha (quartz-alpha) : $\alpha\text{-SiO}_2$. Comparativement aux résultats antérieurs nous constatons la présence de deux phases minérales phosphatées à savoir la francolite et l'hydroxylapatite.

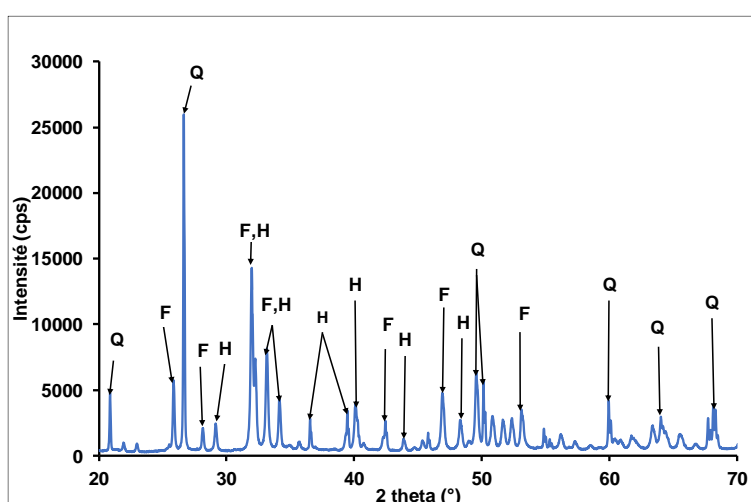


Figure 2 : Diagramme de DRX de l'échantillon SEPB001

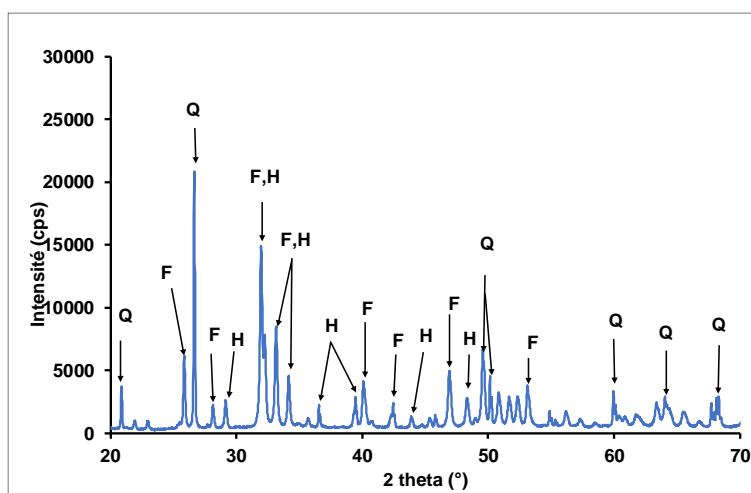


Figure 3 : Diagramme de DRX de l'échantillon SEPB002

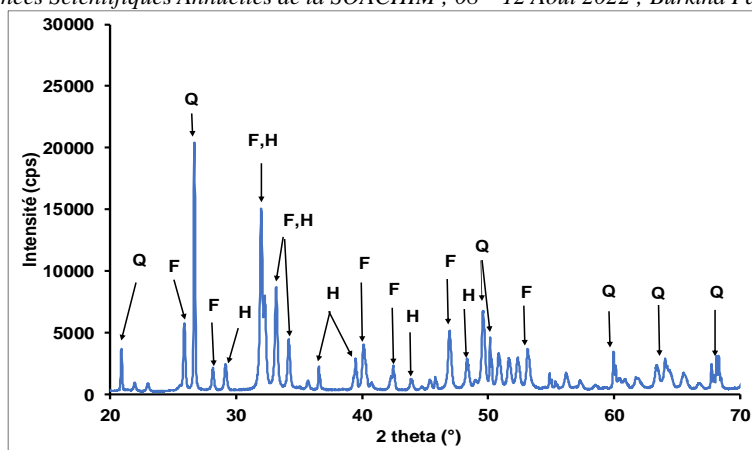


Figure 4 : Diagramme de DRX de l'échantillon SEPB003

F = francolite, **H** = hydroxylapatite ; **Q** = quartz

Les attributions des bandes caractéristiques des groupements fonctionnels du spectre infrarouge ont été faites en s'appuyant sur les tables infrarouges fournies dans la littérature (figure 5 à 7). La forte bande située à 1030 cm^{-1} est attribuée au groupement PO_4^{3-} correspond au domaine des bandes de vibration de valence antisymétrique de la liaison P—O. Les deux bandes observées vers 562 et 605 cm^{-1} sont attribués au mode de vibration de déformation de la liaison P—O. Les doublets relativement peu localisés vers 800 cm^{-1} et 1430 cm^{-1} sont en accord avec les valeurs reportées dans la littérature indiquant la présence des ions CO_3^{2-} [9]. Une large bande d'absorption située vers 3500 cm^{-1} indique la présence de molécules d'eau et/ou groupement OH. Par ailleurs, les bandes d'absorption relatives aux fréquences de vibration des ions OH du réseau apatitique sont situées à 3560 et 630 cm^{-1} . Les résultats de l'infrarouge qui révèlent des fréquences de vibrations des groupements fonctionnels des différentes phases existantes dans les phosphates (CO_3^{2-} , OH, PO_4^{3-}) confirment qualitativement ceux obtenus de l'analyse chimique et de la diffraction des rayons X.

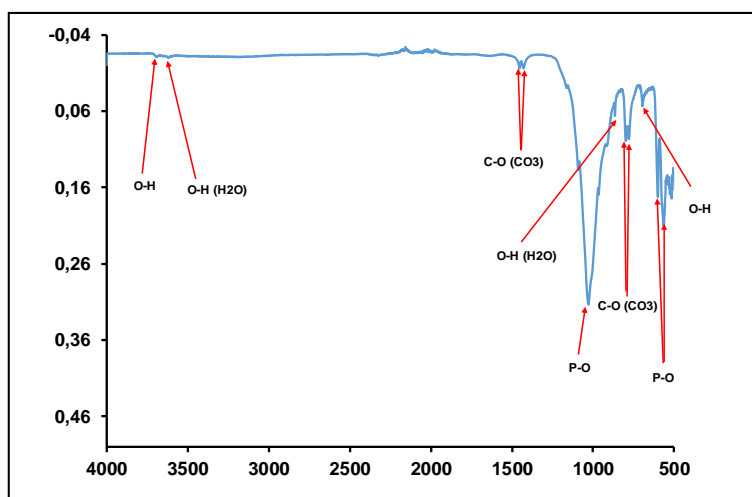


Figure 5 : Spectre infrarouge de l'échantillon SEP001

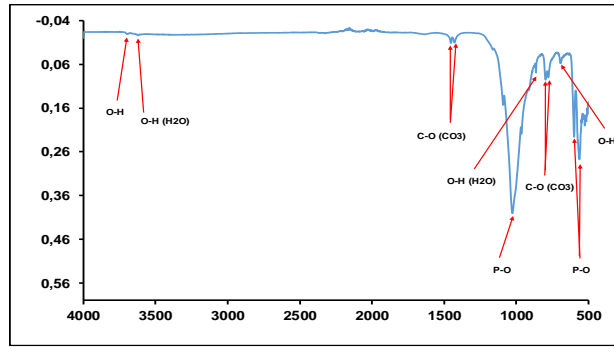


Figure 6 : Spectre infrarouge de l'échantillon *SEP002*

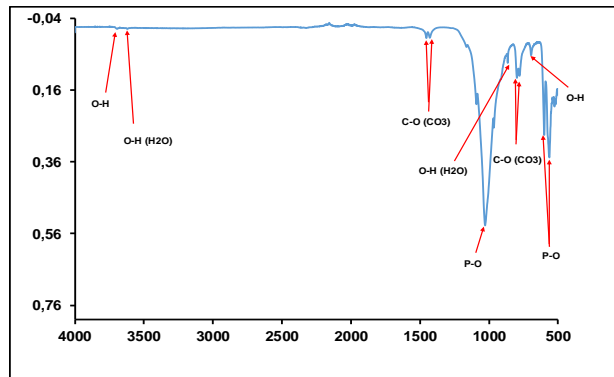


Figure 7 : Spectre infrarouge de l'échantillon *SEP003*

Le Tableau 3 représente les résultats de l'analyse semi-quantitative des différentes phases minérales présentes dans les échantillons (*SEP001*, *SEP002* et *SEP003*). Ces résultats montrent que les échantillons sont constitués majoritairement de carbonate-fluorapatite (francolite). Les PN de Kotchari pourraient être utilisés comme une source de phosphore dans divers domaines par environ plus de 70% de minéraux phosphatés.

Tableau 3 : composition minéralogique des échantillons en % massique

Phases minérales	Valeur (%)		
	<i>SEP001</i>	<i>SEP002</i>	<i>SEP003</i>
Carbonate-fluorapatite (francolite) $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_2,5(\text{CO}_3)_{0,5}\text{F}$	60,24	60,29	64,25
Pentacalcium tris(phosphate) hydroxyde $\text{Ca}_5(\text{PO}_4, \text{CO}_3)_3(\text{OH})$	19,54	22,22	21,12
Oxyde de silicium alpha (quartz) $\alpha\text{-SiO}_2$	16,43	13,34	13,3

Tests agronomiques des phosphates

Les sols prélevés ont un pH moyen de 4,61 ; de matière organique et une quantité de phosphore. L'acidité des sols favorise la dissolution des phosphates ce qui permettrait l'application directe des PN de Kotchari qui sont sensiblement neutre (pH=6,4) [2]. Les résultats obtenus du tableau 4, montrent une augmentation significative du phosphore total (Pt) pour $S_{SEP003}^1(\text{T1})$ et $S_{SEP003}^1(\text{T2})$ (respectivement 455ppm et 341ppm) ainsi que le phosphore assimilable (Pass) (respectivement 8,38ppm et 8,17ppm) par rapport au traitement initial S_{SEP003}^0 (4,24ppm).

Tableau 4 : caractéristiques du sol avec un dosage 1g de PN/kg de sol (*SEP003*)

Période de semis	Paramètres	pH (eau)	MO %	P _t (ppm)	Pass (ppm)
Avant	S_{SEP003}^0	4,61	2,36	273	1,91
	S_{SEP003}^0	4,63	1,76	182	4,24
45 jours après semis	$S_{SEP003}^1(T1)$	5,64	1,87	455	8,38
	$S_{SEP003}^1(T2)$	5,47	1,50	341	8,17
	$S_{SEP003}^1(T3)$	4,72	1,91	273	4,62
	$S_{SEP003}^1(T4)$	4,68	1,80	250	4,48

Les résultats des essais montrent l'évolution de la hauteur des maïs à partir de 1 g de PN (*SEP001*, *SEP002* et *SEP003*) par 1 kg de sol sur les 45 jours du semis. Une différenciation de croissance des maïs est observée à partir de 28 jours après semis qui s'accroît au fur et à mesure avec le nombre de jours après semis. Une bonne variation est observée pour les traitements avec T1 et T2 à partir de la dose 1g de PN/kg de sol tandis que celle-ci est observée à partir de 2 g de PN/kg de sol pour le traitement avec T3. Pour le traitement avec T4, une légère variation est observée à partir de 2g de PN/kg de sol par rapport à celui des sols non traités par les phosphates naturels de Kotchari.

Conclusion

Le présent travail a permis de caractériser les phosphates de Kotchari (PN) par diverses techniques d'analyse (Analyse chimique, DRX, IR, etc.). Ces caractérisations ont révélé la présence dans les PN des phases minérales telles que la carbonate-fluorapatite (francolite), pentacalcium tris(phosphate) hydroxyde (hydroxylapatite) et oxyde de silicium -alpha (Quartz). De cette étude, les compositions minéralogiques et les propriétés physico-chimiques montrent que les phosphates naturels de Kotchari peuvent être utilisés dans plusieurs domaines comme source de phosphore après des traitements. Les résultats des essais de l'application des phosphates de Kotchari nous permettent de proposer des doses d'application de PN de Kotchari disponibles au Burkina Faso comme un fertilisant afin d'améliorer les rendements agricoles. Pour les sols acides à $pH \leq 5$, les phosphates de Kotchari ont un effet sur la croissance du maïs à partir d'une dose de 1g de PN/ Kg de sols pour une granulométrie inférieure à 250 μm . Ces résultats pourraient constituer ainsi un guide préliminaire d'utilisation des PN du Burkina Faso et pourraient être efficace après traitement afin de libérer plus de phosphores pour la croissance ainsi qu'au développement des plants.

Références

- [1] **Ablede KA, Koudjega K, Ganyo KK**, Amélioration de la solubilisation des phosphates naturels de faible réactivité par phosphocompostage à base de fumier, (2019) pp 175-181.
- [2] **Roy RN**, Division mixte FAO/AIEA des techniques nucléaires dans l'alimentation et l'agriculture Vienne, Autriche, (2004) 176.
- [3] **Lampo F**, Contribution à la valorisation des phosphates naturels du Burkina-Faso : études des effets de l'interaction. Thèse de l'université nationale de Côte d'Ivoire, (1993) p 263.
- [4] **Grimal JY, Compaore E, Morel JL, Fardeau JC**, Efficacité du phosphate naturel kodjari (Burkina Faso). Cahiers Agricultures, 6, (1997) p. 251-5.
- [5] **Guisso T, Ba AM, Guinko RS**, Réponse du jujubier (*Zizyphus mauritiana* Lam) à la mycorhization et aux apports de phosphates naturels de Kodjari dans un sol acidifié avec de la tourbe. Editions scientifiques et médicales Elsevier SAS, 55, (2000) p.187-194.
- [6] **Fukuda M, Soma DM, Iwasaki S, Nakamura S, Kanda T, Ouattara K.**, Site-specific responses of lowland rice to acidulated and calcined phosphate rock fertilizers in the Center-West region of Burkina Faso. Plos one 16(4) (2021) <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0250240>
- [7] **Coulibaly S, Traore K, Bengaly A**, Effet des rotations et des fumures sur la disponibilité du phosphore dans un système de culture à base de riz pluvial strict en zone sud soudanienne du Burkina Faso. Revue malienne de science et de technologie, 21, (2019) pp 140-149
- [8] **Pouya MB, Serme I, Gnankambary Z, Zoumboudre G**, Perceptions paysannes d'options technologiques de gestion intégrée de la fertilité des sols sous cultures de sorgho et de niébé dans la région Est du Burkina Faso. International Journal of Innovation and Applied Studies, 32 (1), (2021) pp. 113-122
- [9] **Khaled B**, Etude des propriétés physico-chimiques du phosphate naturel du gisement d'Oum, El Khecheb : traitement et valorisations des co-produits de ce procédé. Rhazes : Green and Applied Chemistry.11(3), (2021) pp.179-202

Elaboration et caractérisation de nanoparticules d'argile pour une application à l'élimination du Cr(VI) en solution synthétique

GORO Hadi Hamadoum¹, Corneille BAKOUAN^{1,2,*}, Brahim SORGHOU¹, Dimanche Régie OUEDRAOGO¹, Boubié GUEL¹

¹Université Joseph KI ZERBO/U.F.R – SEA, Laboratoire de Chimie Moléculaire et des Matériaux (LCMM)/Equipe Chimie Physique et Electrochimie, 03 BP 7021 Ouaga03, Burkina Faso

²Université de Ouahigouya, Unité de Formation en Sciences et Technologies, 01 BP 346 Ouahigouya 01

*Auteur correspondant : bakouancorneille@gmail.com

Résumé : Une argile naturelle du Burkina Faso, nommée KOM caractérisée par différentes techniques physico-chimiques a été utilisée pour la synthèse des nanoparticules Kaolinite référencé NP-K. Les nanoparticules Kaolinite NP-K ont été utilisées pour éliminer le Cr(VI) des solutions synthétiques. Les effets des paramètres pouvant influencer l'adsorption du Cr(VI), (pH, dose, temps de contact, concentrations initiales) sur (NP-K) ont été étudiés dans des expériences en batch. Les résultats de la caractérisation par (DRX, IR, ATD-ATG, analyses chimiques élémentaires, etc.) ont montré que l'argile de KOM utilisée est une argile kaolinitique appropriée pour la synthèse des nanoparticules Kaolinite NP-K. L'étude de la cinétique a montré que l'équilibre est atteint à partir de 3 heures de temps de contact entre les nanoparticules Kaolinite (NP-K) et la solution contenant Cr(VI) et l'adsorption suit un modèle cinétique du pseudo-second ordre. Cela suggère l'existence d'une chimisorption. Les résultats de l'effet de dose ont montré une élimination atteignant 90,15 % et le maximum d'adsorption du Cr(VI) a été observé un pH = 2. La modélisation des données expérimentales a montré que les isothermes d'adsorption sont en accord avec le modèle de Langmuir.

Mots clés : Synthèse, Nano Kaolinite, Caractérisation, Adsorption, Cr(VI)

Abstract : A natural clay from Burkina Faso, named KOM characterized by different physicochemical techniques was used for the synthesis of Kaolinite nanoparticles referenced NP-K. NP-K was used to remove chromium (VI) from synthetic solutions. The effects of parameters that can influence the adsorption of Cr (VI) (pH, dose of NP-K, contact time, initial concentrations) on NP-K were studied in batch experiments. The results of the characterization by XRD, IR, ATD-ATG, elemental chemical analyses, etc. showed that the KOM clay used is suitable kaolinite clay for the synthesis of NP-K. The study of kinetics showed that equilibrium is reached from 3 hours of contact time between NP- K and Cr(VI)-containing solution and the adsorption follows a pseudo-second order kinetic model. This suggests the existence of chemisorption. The results of the dose effect showed a removal reaching 90.15% and the maximum adsorption of chromium (VI) was observed at pH = 2. Modeling of the experimental data showed that the adsorption isotherms are in agreement with the Langmuir model.

Key words: Synthesis, Kaolinite nanoparticles, Characterization, Adsorption, chromium (VI)

1. Introduction

Les métaux lourds sont actuellement un problème crucial et une grande inquiétude pour la santé humaine et l'environnement [1]. Parmi ces métaux lourds, le chrome se présente dans la nature sous plusieurs formes en fonction de son degré d'oxydation. Les deux formes les plus stables figurent le chrome trivalent (Cr (III)) et hexavalent (Cr(VI)). Le Cr(VI) représente la plus grande menace pour l'environnement et la santé humaine, compte tenu de sa grande toxicité et de son caractère carcinogène [3]. Au regard de sa grande toxicité, des travaux ont été menés pour éliminer les quantités de chrome présent dans les eaux usées.

Pour ce qui est du Burkina Faso, des études antérieures sur la pollution des eaux usées par le chrome ont été menées. Ces études ont été portées sur des eaux usées brutes d'origines industrielles, conduites par Jacques SAWADOGO et al (2019) [4] et René SAWADOGO et al (2012) [5]. Selon ces auteurs [4,5],

la concentration en chrome de ces eaux usées variaient de 0,2 mg/L à 5,45 mg/L, dépassant ainsi les normes admissibles qui est de 0,05 mg/L, norme de l'organisation mondiale de la santé [2].

Plusieurs techniques telles que le procédé de coagulation floculation [6], l'échange d'ions [2,7], l'Électrocoagulation [8], l'adsorption, ont été utilisées pour éliminer le Cr(VI) dans les eaux usées. Le processus d'adsorption est la technique la plus appropriée pour l'élimination des polluants inorganiques des eaux usées, en raison de ses avantages significatifs tels que son faible coût, sa disponibilité, sa rentabilité, la facilité d'utilisation, l'efficacité et l'efficacité par rapport aux autres techniques [9]. Parmi les adsorbants utilisés pour adsorber le Cr(VI), il y a les nanotubes de carbone [10], la kaolinite [11], le kaolin [12], les nanoparticules de CuO [13].

La nanotechnologie a contribué au développement de nouveaux produits et de procédés alternatifs dans la purification de l'eau. Les nanoparticules d'argile peuvent être synthétisées suivant les méthodes conventionnelles telles que la coprécipitation, le sol-gel [14] et la méthode physique [15].

Bien que ces méthodes chimiques présentent des avantages, le temps de lavage pour la coprécipitation et le temps de gélation extrêmement long pour le sol-gel constituent une limite pour l'emploi de ces méthodes [16]. Cependant, l'extraction de nanoargile à partir des argiles naturelles constitue une approche soutenable au regard de sa simplicité et la disponibilité de la matière première. L'extraction à l'acide suivie de lavage constitue les étapes clés de cette méthode. Aisha Muthana Alasadi et al., (2019) ont extrait les Nanoparticules de Kaolinite (NP-K) à partir d'une argile naturelle et ont montré son efficacité dans l'élimination de certains métaux lourds comme le Cu(II), Ni(II) et Zn(II) [17].

Ce travail s'inscrit dans une dynamique générale de valorisation des matériaux argileux présents au Burkina Faso. C'est dans ce sens, que nous nous sommes intéressés à un matériau local argileux dénommé KOM comme matière première pour la synthèse de NP-K en vue de mettre au point un système de purification des eaux usées contaminées par le chrome.

Le travail a consisté :

- (i) caractériser l'argile KOM afin de connaître ses caractéristiques physico-chimiques et minéralogiques ;
- (ii) synthétiser les nanoparticules de kaolinite par le procédé d'extraction acide ;
- (iii) caractériser les nanoparticules afin d'évaluer ses propriétés ;
- (iv) évaluer l'effet des paramètres tels que le pH, la cinétique et la dose d'adsorbant sur l'adsorption de Cr(VI) par les NP-K.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel et produits

L'argile utilisée dans ce travail a été prélevé dans la commune rurale Komsilga, province de Kadiogo au centre du Burkina Faso. Komsilga est situé à 25 Km au sud de Ouagadougou, la capitale du pays. L'acide chlorhydrique (HCl), le dichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$) et l'hydroxyde de sodium (NaOH) utilisés étaient tous de qualité pour analyse.

2.2. Caractérisation de l'argile

2.2.1. La diffraction des rayons X

Les diffractogrammes des rayons X de la poudre ont été obtenues à l'aide d'un diffractomètre Bruker AXS Advance D8, fonctionnant sous une tension de 40 kV et une intensité de 30 mA avec une anticathode de cuivre (Cu-K α ; $\lambda=1.5418$ Amstrong), piloté par un ordinateur muni d'un logiciel DIFFRAC AT version 2. La fenêtre d'analyse est comprise entre 3° et 60° avec un pas de 0,0194°.

2.2.2. La spectrométrie infrarouge (FT-IR)

Un rayonnement infrarouge moyen (compris entre 4000 cm^{-1} et 400 cm^{-1} de fréquence voisine à la fréquence de vibration de la molécule, a été envoyé sur l'échantillon à analyser. L'échantillon à analyser a été dilué dans de la poudre de KBr afin d'éviter la saturation du signal. Les pastilles ont été réalisées en mélangeant 5 mg de l'échantillon avec 500 mg de bromure de potassium (KBr). La mesure réalisée à l'aide d'un appareil de marque Shimadzu FTIR-8400S.

2.3. Synthèse des nanoparticules d'argile

Les nanoparticules ont été synthétisées suivant la méthode d'extraction acide [1-2]. L'argile a été broyée à l'aide d'un (mortier+pilon) en céramique puis tamisée avec un tamis de 160 µm. Le fond de tamis obtenu a été séché dans une étuve à 80 °C pendant 4 heures. Ensuite, dans un erlenmeyer de 250 mL, 50 g de la poudre séchée de KOM a été dispersée dans 200 mL d'une solution de HCl, 37 %, puis l'ensemble a été agité à 460 rpm à température ambiante pendant 12 heures. Après décantation, il se forme trois phases : une phase supérieure (le surnageant) riche en sels MClx, une phase moyenne (blanche) riche en nanoparticules d'argile et un fond sombre constitué essentiellement de silice.

2.4. Essais en batch

Les essais d'élimination du Cr(VI) par la nanoparticule de kaolinite, réalisés pendant cette étude, ont été menés en mode batch. A partir des solutions mères du Cr(VI) (50 mg/L) préparées à partir de K₂CrO₄ (99,5 %, R.P. NORMAPUR), les autres solutions sont obtenues à la suite d'une dilution. Pour chaque une masse appropriée de nanoparticules a été additionnée dans la solution de Cr(VI) et l'ensemble agitée durant un certain temps puis filtrée à l'aide de membrane en nylon de diamètre 25 mm avec un seuil de rétention de 0,45 µm. La concentration résiduelle en Cr(VI) est dosée par la spectrométrie d'absorption atomique à flamme (SAAF).

Le pourcentage en chrome adsorbé est calculé à l'aide de l'équation 1.

$$\% \text{Cr(VI)} = \frac{(C_0 - C_e)}{C_0} \times 100 \quad (\text{Eq.1})$$

% Cr(VI): Pourcentage en Cr(VI),

C₀ : Concentration initiale en Cr(VI) en mg/L,

C_e : Concentration à l'équilibre en Cr(VI) en mg/L.

3. Résultats et discussions

3.1. Caractérisation de l'argile

L'analyse chimique élémentaire de la matière première argileuse (**Tableau 1**) montre la prédominance de la silice et de l'alumine dans l'échantillon, ceci indique la présence de la kaolinite (Al₂Si₂O₅(OH)₄). On note également la présence des oxydes métalliques (Fe₂O₃, K₂O, MgO...) constituants les éléments mineurs.

Tableau. 1 : Composition chimique élémentaire de KOM en pourcentage (%) massique

Oxydes	SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	Na ₂ O	K ₂ O	CaO	MgO	PF*	Total
(%) massique	58,55	28,38	1,66	0,08	0,50	0,01	0,21	12,32	101,71

Le diffractogramme des RX de l'argile brute est illustré par la **Figure 1.a**. L'analyse spectrale indique qu'elle est composée de minéraux argileux tels que la kaolinite et l'illite (K,H₃O)Al₂Si₃AlO₁₀(OH)₂, et des minéraux associés, précisément le quartz (SiO₂) et la goéthite (FeO(OH)). Il révèle principalement la présence de trois pics intenses, les deux premiers correspondent à la Kaolinite et le troisième un mélange de Quartz, Illite, ce qui implique que notre argile est hétérogène. Ces résultats corroborent ceux de l'analyse chimique élémentaire indiquant la présence de la Kaolinite et de Quartz.

La spectroscopie infrarouge (IR) complète les résultats de la diffraction des rayons X (DRX). La **Figure 1. b** présente le spectre infrarouge de l'argile KOM enregistré dans le moyen infrarouge (4000 à 400 cm⁻¹). L'identification des bandes du spectre infrarouge de l'échantillon KOM s'est appuyée sur les données de la littérature. Le **Tableau 2** donne les différentes bandes d'attributions.

Tableau 2: Interprétation des spectres Infrarouges de l'argile

ν (en cm^{-1})	Attributions probables	Références
3695 et 3620	Bandes correspondant respectivement aux vibrations des liaisons Al-OH externe et interne de la kaolinite	[18]
1113	Bande correspondante aux vibrations de la liaison Si-O de la kaolinite	[19]
1032	Bande correspondante aux vibrations de la liaison Si-O de la kaolinite et aussi de la liaison Fe-OH de la goethite	[19]
1008,6	Vibrations des liaisons O-H de l'illite et de la kaolinite	[20]
914	Bande liée aux vibrations de déformation de Al-OH de la kaolinite et aussi de la liaison Fe-OH de la goethite	[19]
794	Vibration de la liaison Si-O du quartz et Fe-OH de la Goethite	[19]
694	Bande attribuable aux vibrations des liaisons O-H de la kaolinite et celles des liaisons Si-O du quartz	[19]
542	Vibration de la liaison Si-O du quartz	[21]
470	Vibration de la liaison Si-O du Quartz	[22]

Ces résultats confirment la présence de la Kaolinite, du Quartz, de l'illite et de la Goethite dans KOM, préalablement identifiés par la DRX.

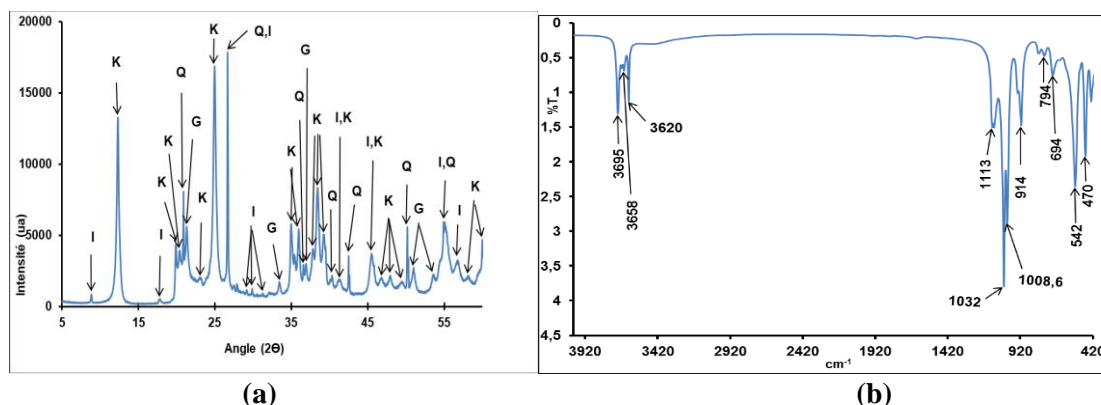


Figure 1: **a.** Diffractogramme des rayons X de KOM (K = Kaolinite; Q = Quartz, G = Goethite, I = Illite) et **b.** Spectre infrarouge de l'argile KOM

3.2. Caractérisation des nanoparticules

Les nanoparticules ont été caractérisées par DRX dont le diffractogramme **Figure 2** montre que NP-K est constitué de minéraux argileux à savoir la kaolinite et l'illite, et de minéral associé, le quartz. La prédominance des pics caractéristiques de la kaolinite traduirait que les NP-K ont été extraites de l'argile KOM. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par *Aisha Muthana Alasadi et al.*, (2019) [17]. Par ailleurs la distribution des tailles des particules a été estimée au moyen de la methode des poutres. L'équation 2 permet de calculer la distribution en taille des particules de NP-K

$$L = \frac{k\lambda}{\beta \cos\theta} \quad \text{Eq.2}$$

Avec L: taille des particules en nanomètre (nm) ; λ : Longueur d'onde en angström (0,15405 nm); K: constante (0,9) ; β : largeur à mi- hauteur du pic en radian (rd) et Θ : angle thêta en degré

La taille moyenne des particules de NP-K calculée à partir de la **Relation III.1** est 46,53 nm. Au regard de ces résultats on pourrait conclure que les nanoparticules de kaolinite ont été élaborées avec succès à partir de l'argile naturelle KOM.

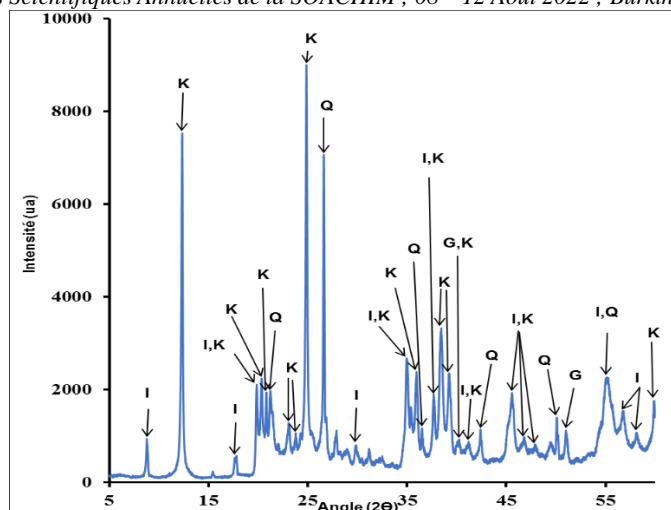


Figure 2 : Diffractogramme de NP-K (Avec **K** =kaolinite, **Q** = Quartz, **I** = Illite, **G** = Goethite)

3.3. Essais en batch

Les résultats de la cinétique d'adsorption du Cr(VI) par les NP-K réalisée sur les solutions synthétiques (**Figure 3**) montre que dans l'intervalle de temps allant de 0 à 1 heures, le pourcentage du Cr(VI) éliminé augmente très rapidement pour atteindre 62% après une heure d'agitation. La courbe de la cinétique commence à se linéariser à partir de 2 heures d'agitation pour former un palier traduisant que l'équilibre est atteint. La durée de 3 heures avec une quantité d'adsorption Q_t de 71,45 mg/g correspond au temps d'équilibre c'est-à-dire une augmentation de la durée d'agitation n'entraînerait une augmentation significative du taux de Cr(VI). Cette valeur de 3 heures sera fixe comme étant le temps nécessaire pour atteindre l'équilibre pour les autres essais d'adsorption du Cr(VI) sur NP-K.

Afin d'évaluer le processus d'adsorption du Cr(VI) sur les **NP-K**, deux modèles d'adsorption ont été utilisés pour identifier le type d'adsorption mis en jeu à savoir le modèle de pseudo-premier ordre et le modèle de pseudo-second ordre, respectivement **Figure 4 a et b**. On note que le coefficient de détermination (R^2) plus important pour le modèle de pseudo-second ordre ($R^2 = 0,9993$). Ce qui signifie que la cinétique d'adsorption du Cr(VI) par les NP-K est du type pseudo-second ordre. Cela suggère l'existence d'une chimisorption (adsorption de sphère interne) d'un partage d'électrons entre les ions dichromates et les sites actifs de l'adsorbant. Le mécanisme d'adsorption probable est donné par la **Figure 5**.

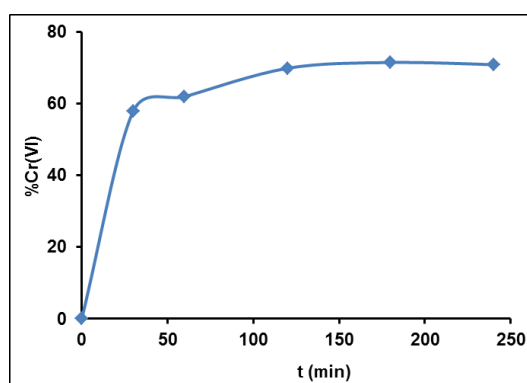


Figure 3: Effet du temps de contact sur l'élimination de Cr(VI) par les NP-K, $m = 0,01$ g d'adsorbant, $C_0 = 20$ mg/L et pH = 2.

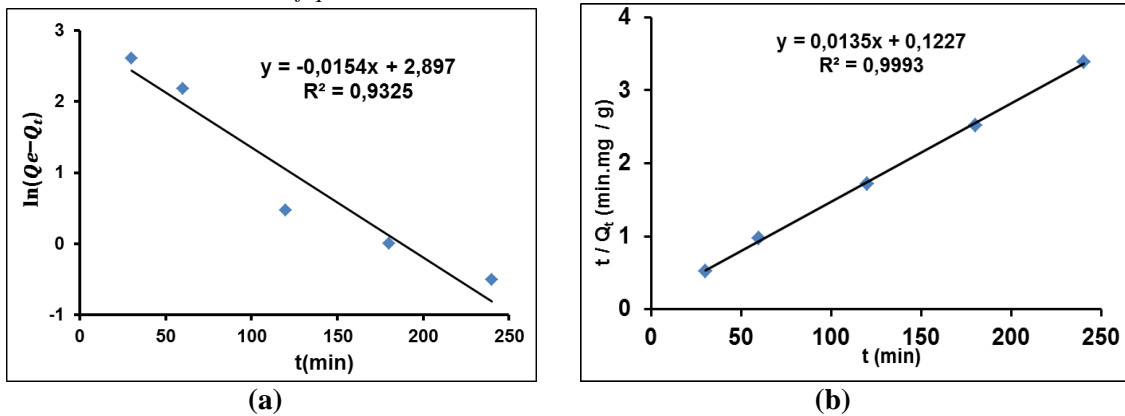


Figure 4: Modèles cinétiques d'adsorption du Cr(VI) par les NP-K. (a): cinétique de pseudo-premier ordre et (b): cinétique de pseudo-second ordre.

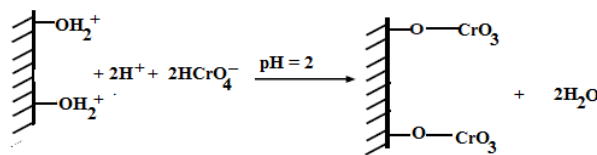


Figure 5: Mécanismes d'adsorption probable de sphère interne du Cr(VI) par les NP-K a pH = 2.

L'effet du pH sur l'adsorption de Cr(VI) est représenté par la **Figure 6. a**. L'augmentation du pH de la solution engendre une diminution du taux de Cr(VI) éliminé. Le passage du pH de 2 à 4 s'accompagne d'une baisse notable du taux d'élimination de Cr(VI) qui passe de 86,15 % à 54,15 %. Au-delà de cette valeur de pH = 4, le taux d'élimination de Cr(VI) baisse toujours, mais de façon moins significative, pour enregistrer sa plus faible valeur à 37 % à pH = 10. L'adsorption du Cr(VI) par les NP-K pourrait donc être attribuée à l'attraction électrostatique entre les anions HCrO_4^- majoritaires aux faibles pH et les groupes hydroxyles protonés qui pourraient constituer de sites actifs à la surface de l'adsorbant. La valeur maximale d'adsorption (86,15 %) a été observée à pH = 2. Cette valeur servira de valeur de pH pour mener les différentes études d'adsorption du Cr (VI) sur les NP-K.

Les résultats de l'effet de la dose montrent une augmentation de la dose d'adsorbant de 0,2 à 2 g/L a entraîné une amélioration du taux d'élimination de Cr(VI) qui passe de 63,95 % à 90,15 % (**Figure 6. b**). Ces résultats corroborent ceux obtenus par *Vinod Kumar Gupta et al.* (2016) [13]. L'augmentation de la capacité d'adsorption serait due à la disponibilité de sites d'actifs sur les NP-K pour les ions Cr (VI) [23].

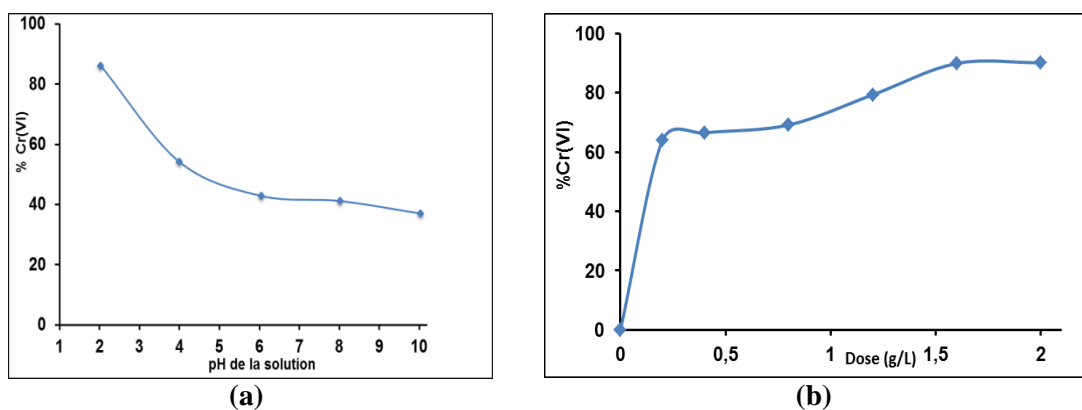


Figure 6: a) Effet du pH sur l'adsorption du Cr(VI) par le NP-K (temps d'équilibre de 3 heures, concentration de Cr(VI) de 20 mg/L et concentration de l'adsorbant de 1g/L). et b) Effet de dose de NP-K sur l'adsorption de Cr(VI) = 20 mg/L ; Dose adsorbant de 0,2 à 2 g/L ; Temps d'agitation : 3h)

4. Conclusion

Une argile dénommée KOM a été utilisée comme matière première dans la synthèse de nanoparticules de kaolinite (référéncée NP-K). Les nanoparticules de kaolinite ainsi obtenues ont été utilisées comme adsorbant dans l'élimination du Cr(VI) dans une eau synthétique. Avant toute synthèse, l'argile KOM a été caractérisée et les résultats de la caractérisation ont révélé que KOM est constituée majoritairement de la kaolinite (68,76 %) et d'autres minéraux comme l'illite (6,8 %), le Quartz (22,74 %) et la Goethite (1,7 %). Au regard de sa forte teneur en kaolinite, KOM a été classifiée comme une argile kaolinitique et apte pour la synthèse des NP-K.

Les NP-K ont été synthétisées par le procédé d'extraction acide. Et la diffraction des rayons X a révélé que les particules synthétisées ont une taille moyenne de 46 nm.

L'utilisation du NP-K pour l'élimination du Cr(VI) dans des eaux synthétiques a présenté des résultats satisfaisants de plus 90 % de taux d'élimination. Les paramètres pouvant contrôler le processus d'adsorption du Cr(VI) sur NP-K (pH, temps de contact, la dose de NP-K et les concentrations initiales de Cr(VI)) ont été étudiés. Les résultats montrent qu'à un pH faible de 2, on observe une bonne élimination du Cr(VI) avec 2 g/L de NP-K pour une solution synthétique de 20 mg/L. Aussi, les modélisations des résultats par les modèles du pseudo-second ordre et de Langmuir ont permis de savoir que l'élimination se ferait par chimisorption à travers un processus d'adsorption monocouche.

Références

- [1] **BENBEKHTI Soumia**, Adsorption du chrome sur la marne argileuse en solution aqueuse. Mémoire de master de l'université ABOU-BEKR BELKAID-TELMCEN (Algérie), 2019.
- [2] **Rafati, L.; Mahvi, A. H.; Asgari, A. R.; Hosseini, S. S.**, Removal of chromium (VI) from aqueous solutions using Lewatit FO36 nano ion exchange resin. *Int. J. Environ. Sci. Tech.*, 7 (1), (2010), 147-156.
- [3] **Santos PG, Almeida JA, Sequinatto L.**, Mineralogy of the clay fraction and chemical properties of soils developed from sedimentary lithologies of Pirambóia, Sanga-the-Cabral and Guará Geological Formations in Southern Brazil. *Rev Bras Cienc Solo*. 2017;41:e0160344. Doi : <https://doi.org/10.1590/18069657rbc20160344>
- [4] **J. SAWADOGO, J. B. LEGMA, A. KABORE, P. J. A. COULIBALY, S. K. MOUTARI et M. BOUGOUMA**, Caractérisations physico-chimiques des sols irrigués par les eaux usées brutes d'origines industrielles. *Afrique SCIENCE*, 15(2) (2019) 226 – 237.
- [5] **R. SAWADOGO, I. GUIGUEMDE, F. DIENDERE, J. DIARRA et A. BARY**, Caractérisation physico-chimique des eaux résiduaires de tannerie: cas de l'usine TAN ALIZ à Ouagadougou (Burkina Faso). *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 6(6) (2012): 7087-7095.
- [6] **A. Abid, A. Zouhri et A. Ider**, Utilisation d'un nouveau bio-floculant extrait du cactus marocain dans le traitement des rejets chargés de Cr(VI) par le procédé de coagulation floculation. *Revue des Energies Renouvelables*, Vol. 11 N°2 (2008) 251 – 257.
- [7] **Inoussa Zongo**, Traitement de deux effluents textiles et d'un effluent simulé de tannerie par électrocoagulation : étude énergétique et effet des paramètres opératoires sur le traitement des polluants. *European Journal of Scientific Research*, Vol.62, No.2 (2011), 216-235.
- [8] **Ait-Ouaisa yasmine**, Elimination du Cr(VI) par adsorption sur résine échangeuses d'ions. Mémoire de master de la Faculté de Génie Mécanique & Génie des Procédés (Algérie), 2009.
- [9] **Mohammad Kashif Uddin**, A review on the adsorption of heavy metals by clay minerals, with special focus on the past decade. *Chemical Engineering Journal*, 308 (2017) 438–462.
- [10] **M.H Dehgani, M.M. Taher, A.K. Bajpai, B. Heibati, I. Tyagi, M. Asif, s. Agarwal, V.K. Gupta**, Removal of noxious Cr (VI) ions using single-walled carbon nanotubes and multi-walled carbon nanotubes. *Chemical Engineering Journal*, 1 (2015), 344-352.
- [11] **O. Ajouyed, C. Hurel, N. Marmier**, Evaluation of the adsorption of hexavalent chromium on kaolinite and illite, *J. Environ. Prot.*, 2 (2011), 1347–1352.
- [12] **K.G. Bhattacharyya, S.S. Gupta**, Adsorption of chromium (VI) from water by clays. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 45 (2006), 7232–7240.
- [13] **V. K. Gupta, R. Chandra, I. Tyagi, M. Verma**, Removal of hexavalent chromium ions using CuO nanoparticles for water purification applications. *Journal of Colloid and Interface Science*, 478 (2016), 54–62. Doi:
- [14] **A. Bahari1, F. Ashrafi 2, A. Babenejad 2, F. Barimani 2, K. Sedghi2 and N. Habibzadeh**, Investigation and characterization of Nano clay structures. *Archives of Applied Science Research*, 3 (3) (2011), 462-469.
- [15] **Mhadhbi, M.**, Modeling of the High-Energy Ball Milling Process. *Advances in Materials Physics and Chemistry*, 11(2021), 31-44. Doi:
- [16] **S. Bhattacharyya, P. S. Behera**, Synthesis and characterization of nano-sized α -alumina powder from kaolin by acid leaching process. *Applied Clay Science*, 146 (2017), 286–290.
- [17] **A. M. Alasadi, F. I. Khaili and A. M. Awwad**, Adsorption of Cu(II), Ni(II) and Zn(II) ions by nano kaolinite: Thermodynamics and kinetics studies. *Chemistry International*, 5(4) (2019), 258-268. <https://doi.org/10.5281/zenodo.2644985>

Caractérisation de deux argiles ivoiriennes en vue de les valoriser dans l'éco-construction

Kouakou Lébé Prisca M-S^{1*}, Kouamé Niamien Alfred¹, Gouré Doubi Bi Irié Hervé², Méité Namory¹, Kangah Jean Thierry¹, Zokou Esmel Privat Z.¹, Konan Koffi Léon¹, Andji-Yapi Yao Jonas¹

¹Laboratoire de Constitution et de Réaction de la Matière (LCRM), Université Félix Houphouët Boigny, 22 BP 582 Abidjan 22, Abidjan, Côte d'Ivoire

²Département de Mathématiques, Physique et Chimie, UFR des Sciences Biologiques, Université Peleforo Gon Coulibaly, BP 1328 Korhogo, Côte d'Ivoire

*Courriel auteur correspondant : priscacoakre@yahoo.fr

Résumé : La consommation mondiale de ciment est environ 6 milliards de tonnes par an soit 9-10% d'émission globale de CO₂ ce qui contribue au réchauffement climatique et impacte négativement l'environnement. Il est donc important de développer de nouveaux matériaux alternatifs à faible impact environnemental d'où un regain d'intérêt pour les constructions en terre crue. Ce travail vise à valoriser deux argiles de Côte d'Ivoire (Aga et Bak) dans l'éco-construction. Pour ce faire, des caractérisations géotechnique et minéralogique ont été réalisées sur ces argiles. Les résultats des essais géotechnique et minéralogique ont montré que Aga et Bak sont des sols fins moyennement plastiques de classe A, constitués essentiellement de quartz (73,13% pour Aga et 74,56% pour Bak) et de minéraux argileux (12,73 % de kaolinite et 8,55% d'illite pour Aga contre 8,31% de kaolinite et 13,72% d'illite pour Bak). Par ailleurs, ces échantillons ne renferment pas d'argiles gonflantes et contiennent une quantité suffisante d'oxydes de fer. Aga et Bak pourraient donc être utilisés dans la fabrication de matériaux de construction tels que les briques et les tuiles. Dans les travaux futurs, des matériaux élaborés à partir de ces argiles seront caractérisés.

Mots clés : Argiles, écomatériaux, propriétés minéralogiques et géotechniques

Characterization of two Ivorian clays with a view to their enhancing in eco-construction

Abstract: Global cement consumption is nearly 6 billion tons per annum or 9-10% of global CO₂ emissions which contributes to global warming and negatively impacts the environment. It is therefore important to develop new alternative materials with low environmental impact, hence a renewed interest in raw earth constructions. This work aims to enhance two clays from Côte d'Ivoire (Aga and Bak) in eco-construction. To do this, geotechnical and mineralogical characterizations were carried out on these clays. The results of the geotechnical and mineralogical tests showed that Aga and Bak are class A moderately plastic fine soils, consisting essentially of quartz (73.13% for Aga and 74.56% for Bak) and clay minerals (12.73% kaolinite and 8.55% illite for Aga against 8.31% kaolinite and 13.72% illite for Bak). Moreover, these samples do not contain swelling clays and contain a sufficient quantity of iron oxides. Aga and Bak could therefore be used in the manufacture of building materials such as bricks and tiles. In future work, materials made from these clays will be characterized.

Keywords: Clays; eco-material; mineralogical and geotechnical properties

1. Introduction

Les produits cimentaires sont les plus utilisés dans le domaine de la construction à travers le monde. Toutefois, leur production est énergivore, contribue au réchauffement climatique [1] et le coût du ciment demeure élevé pour les populations dans les pays en voie de développement.

Il est donc indispensable de développer de nouveaux matériaux alternatifs à faible impact environnemental. Ainsi depuis quelques années, le matériau terre délaissé au profit des parpaings de ciment connaît un regain d'intérêt à travers le monde. En effet, ce matériau présente de nombreux avantages notamment sa disponibilité, son caractère écologique, ses propriétés hygroscopique et thermique. Malgré ces nombreux avantages, de nombreux défis restent à relever pour le matériau terre à savoir la faible tenue à l'eau, la résistance mécanique souvent médiocre, les risques de fissuration due au retrait de séchage important.

Dans plusieurs pays de l'Afrique Subsaharienne dont la Côte d'Ivoire, de nombreuses études sont menées afin de valoriser les matières premières argileuses dans l'éco-construction [2-4].

Cette étude vise à caractériser deux matières premières argileuses de Côte d'Ivoire en vue de les valoriser dans l'éco-construction à partir de la détermination de leurs propriétés géotechniques et physico-chimiques.

2. Matières premières et méthodes

2.1. Matières premières

Deux matières premières argileuses ont été utilisées dans le cadre de cette étude. La première référencée Bak a été prélevée dans le village de Becedi (5°38'26,87737" N, 4°34'51,7423"O) dans le département de Sikensi au Sud de la Côte d'Ivoire. La seconde référencée Aga, provient de la ville de Gagnoa (6°07'37,6" N, 5°56'15,0"O) au Centre-Ouest de la Côte d'Ivoire.

Les différents sites de prélèvement sont représentés sur la **figure 1**.

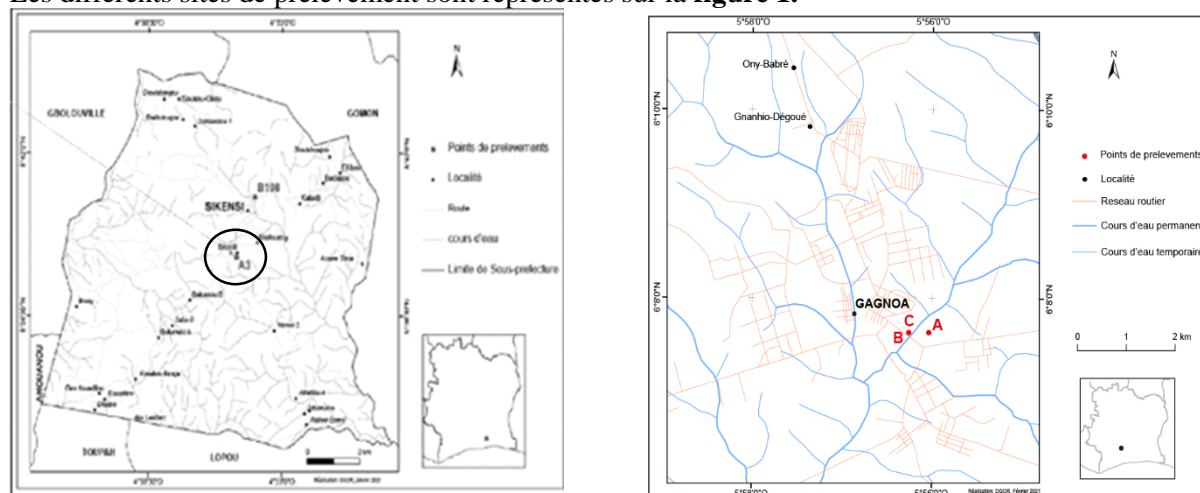


Figure 1: Sites de prélèvement des échantillons

2.2. Méthodes expérimentales

L'analyse granulométrique des échantillons d'argile a été réalisée par tamisage et sédimentométrie respectivement selon les normes NF P 94-056 et NF P 94-057.

Les limites d'Atterberg ont été déterminées suivant la norme NF P 94-051. La limite de liquidité (W_L) a été déterminée par la méthode du disque de Casagrande et la limite de plasticité (W_P) selon la méthode du rouleau. L'indice de plasticité (I_P) est obtenu par la différence entre ces deux grandeurs.

La valeur au bleu de méthylène du sol a été déterminée par l'essai au bleu de méthylène selon la norme NF P 94-068.

La surface spécifique des échantillons d'argile a été déterminée par la méthode Blaine suivant la norme EN 196-6.

La composition chimique des deux matières premières argileuses a été déterminée par spectrométrie d'émission plasma (ICP-AES) à l'aide de l'appareil de marque Anton Paar.

Les phases cristallines dans les différents échantillons ont été identifiées par la diffraction des rayons X sur des préparations non orientées de poudre de granulométrie inférieure à 100 μ m. Les diffractogrammes ont été obtenus à l'aide du diffractomètre Bruker D8 ADVANCE puis traités à l'aide du logiciel EVA Brukers AXS.

Les résultats de l'analyse chimique combinés à ceux de la diffraction des rayons X ont permis d'évaluer la composition minéralogique semi quantitative en utilisant la relation suivante :

$$T(a) = \sum M_i \times P_i(a)$$

$T(a)$: teneur (oxyde%) en élément chimique « a » ; M_i : teneur (%) en minéral « i » dans la matière étudiée et contenant l'élément « i » ; $P_i(a)$: proportion de l'élément « a » dans le minéral « i ».

Le comportement thermique (Analyse Thermique Différentielle et Thermogravimétrie ATD/ATG) des échantillons a été enregistré simultanément à l'aide de l'appareil NETZSCHSTA de la température ambiante à 1100°C, avec une montée en température de 5°C/min.

3. Résultats et discussion

3.1. Caractérisation géotechnique des argiles

Les résultats de l'analyse granulométrique des échantillons Aga et Bak sont présentés dans le **tableau 1**.

Tableau 1 : Distribution granulométriques des échantillons

Echantillons	Limons (%)	Sable (%)	Argile (%)
Aga	23,7	54,94	21,36
Bak	14,6	54,45	30,95

Ces résultats montrent que Aga est un sol sablo-limono-argileux et Bak est un sol sablo-argileux. L'échantillon Aga présente une meilleure cohésion à l'état naturel que l'échantillon Bak du fait de la teneur en argile comprise entre 5 et 30% [5]. Par ailleurs, ces deux échantillons contiennent la quantité de sable nécessaire pour élaborer des briques de terre crues. En effet, une teneur de sable entre 45 et 65% est nécessaire pour élaborer des briques crues [6]. D'une façon générale, les échantillons Aga et Bak présentent une bonne cohésion à l'état naturel ce qui serait donc un atout pour leur utilisation dans l'élaboration de Briques de Terre Comprimée (BTC).

Le **tableau 2** ci-dessous résume les autres paramètres géotechniques déterminés.

Tableau 2 : Autres paramètres géotechniques déterminés

Echantillons	Aga	Bak
Limite de liquidité W_L (%)	27	37
Limite de plasticité W_P (%)	14	17
Indice de plasticité I_P (%)	13	20
Indice de consistance I_c (%)	1,97	1,77
Valeur au Bleu de Méthylène VBM (g/100g)	1,21	0,5

Les échantillons Aga et Bak sont des sols fins moyennement plastiques du fait de $12 < I_P < 25$ [7] donc de classe A. La valeur plus grande de l'indice de plasticité de Bak (20%) comparée à celle de Aga (13%) s'explique par la quantité plus grande d'argile dans cet échantillon en se référant aux résultats de l'analyse granulométrique. La limite de liquidité des deux échantillons se situe dans la zone limite pour les BTC (25-50%), quant à leur limite de plasticité, elle se situe dans la zone préférentielle pour les BTC (12-22%) [8]. La valeur au bleu de méthylène est faible pour les deux échantillons et met ainsi en évidence d'une part la faible activité de la fraction argileuse et d'autre part l'absence d'argiles gonflantes susceptibles de créer des fissures dans les BTC. Par ailleurs, les résultats de la valeur au bleu de méthylène sont relativement faibles et en accord avec ceux de l'analyse granulométrique et des limites d'Atterberg quant à la nature et à la classe des échantillons.

3.2. Caractérisations physico-chimiques des matières premières argileuses

Le **tableau 3** présente les résultats de l'analyse chimique des deux matières premières argileuses.

Tableau 3 : Compositions chimiques (% massique d'oxydes)

Echantillons	SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	K ₂ O	Na ₂ O	TiO ₂	SiO ₂ /Al ₂ O ₃	Al ₂ O ₃ /Fe ₂ O ₃
Aga	86,92	8,32	2,81	1,01	0,19	0,74	10,44	2,96
Bak	84,63	8,56	4,14	1,62	0,1	0,95	9,88	2,07

Les résultats montrent la prédominance de la silice dans les deux matières premières, combinée à une teneur moins importante en alumine. Des oxydes mineurs de fer ; de potassium ; de sodium et de titane sont également présents. Le rapport SiO₂/Al₂O₃ est élevé dans les deux échantillons, cela suggère la présence en quantité de silice libre ce qui corrobore les résultats de l'analyse granulométrique. Quant au rapport Al₂O₃/Fe₂O₃ respectivement de 2,96 et 2,07 pour Aga et Bak, il est inférieur à 5,5 ces

échantillons sont donc riches en fer et peuvent être utilisés dans la fabrication de matériaux de construction tels que les briques et les tuiles [9].

Les diffractogrammes des rayons X combinés des deux échantillons sont présentés sur la **figure 2**.

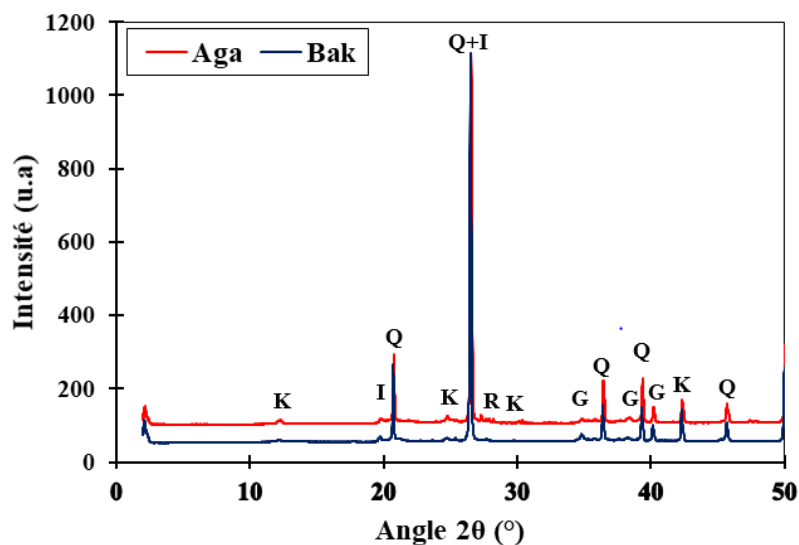


Figure 2: Diffractogrammes des rayons X des échantillons

L'analyse des diffractogrammes indique que Aga et Bak sont constitués de quartz (SiO_2), de goethite (FeOOH), de rutile (TiO_2) et de minéraux argileux notamment la kaolinite ($\text{Si}_2\text{Al}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$) et l'illite ($\text{KAl}_2(\text{Si}_3\text{Al})\text{O}_{10}(\text{OH})_2$).

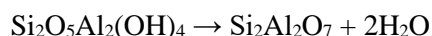
Les résultats combinés de l'analyse chimique et de la diffraction des rayons X ont permis de déterminer la composition minéralogique semi-quantitative des deux échantillons. Les résultats obtenus sont résumés dans le **tableau 3**.

Tableau 3 : Composition minéralogique (% oxydes)

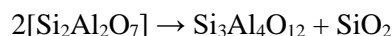
Echantillons	Quartz	Kaolinite	Illite	Goethite	Rutile
Aga	77,13	12,73	8,55	3,13	0,74
Bak	74,56	8,31	13,72	4,6	0,95

Ces résultats montrent la prédominance du quartz qui joue un rôle de dégraissant dans les matériaux céramiques permettant de réduire la plasticité et facilitant ainsi leur maniabilité. Les deux échantillons contiennent également une bonne quantité de minéraux argileux (Kaolinite et illite) qui vont assurer le rôle de liant naturel ce qui donne aux échantillons une bonne cohésion naturelle.

Les thermogrammes ATD/ATG des deux échantillons sont représentés sur la **figure 3**. Les thermogrammes présentent trois phénomènes endothermiques et un phénomène exothermique. Le premier phénomène exothermique autour de 70°C avec une perte de masse inférieure à 1% correspond au départ de l'eau hygroscopique, il s'agit de molécules retenues à la surface du minéral dont le départ ne modifie pas la structure du matériau [10, 11]. A 478°C et à 495°C respectivement pour Aga et Bak, un second phénomène endothermique est observé et accompagné d'une perte de masse de 1,85% pour Aga et 1,65% pour Bak. Ce phénomène est lié à la déshydroxylation de la kaolinite et de l'illite. Le départ de ces hydroxyles désorganise le réseau cristallin de ces minéraux. Pour la kaolinite, la déshydroxylation engendre la formation d'une phase amorphe appelée métakaolinite [12, 13], cette réaction s'écrit selon l'équation :



Le pic endothermique autour de 560°C pour Aga et Bak est lié à la transition du quartz α en quartz β . Enfin, à 933°C pour Aga et à 937°C pour Bak, le pic exothermique observé est associé à la réorganisation structurale de la métakaolinite en spinelle qui est un composé plus stable [14] selon l'équation suivante :



Ces thermogrammes confirment que les échantillons Aga et Bak sont riches en quartz et en minéraux argileux conformément aux résultats de la composition minéralogique.

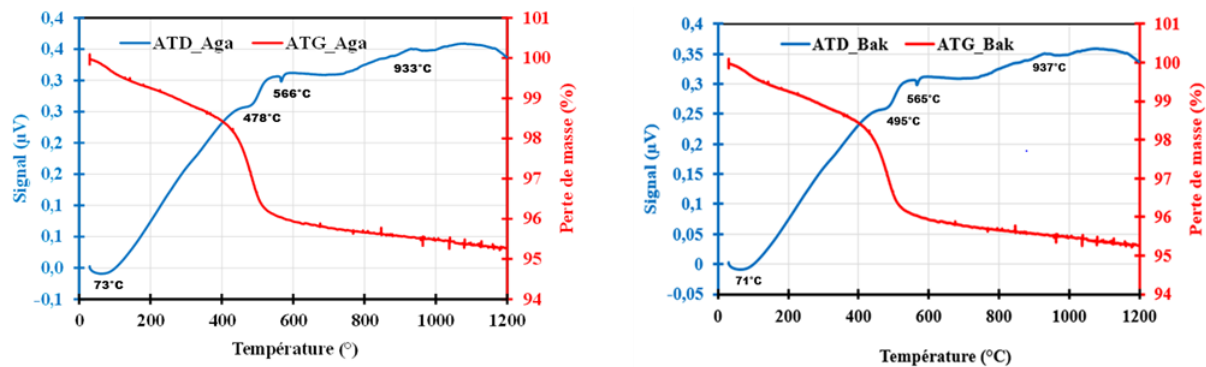


Figure 3: Thermogrammes ATD/ATG des échantillons Aga et Bak

4. Conclusion

Cette étude avait pour objectif la caractérisation géotechnique et physico-chimique de deux matières premières argileuses de Côte d'Ivoire en vue de les valoriser dans les Briques de Terre Comprimée (BTC). L'ensemble des résultats géotechniques ont donc montré que Aga et Bak pouvaient être utilisés dans l'élaboration de BTC du fait de leur bonne cohésion à l'état naturel. En effet, ils ont montré que les échantillons Aga et Bak sont des sols fins sablo-argileux moyennement plastiques. Les résultats des caractérisations physico-chimiques ont révélé que Aga et Bak sont riches en quartz et en minéraux argileux qui vont jouer un rôle de liant naturel. De plus, ces échantillons sont riches en fer et peuvent être utilisés dans la fabrication de matériaux de construction tels que les briques et tuiles. En somme, les matières premières argileuses Aga et Bak peuvent donc être valorisées dans l'éco-construction.

5. Bibliographie

- [1] Taylor, M., Tam, C., & Gielen, D. *Korea* (2006) 50(2.2), 61-67.
- [2] Kouamé, A. N., Konan, L. K., Doubi, B. I. H. G., Togonovi, M. T., & oyetola, S. *Journal of Materials* (2020) 8(1), 1-8.
- [3] Sawadogo M., Seynou M., Zerbo L., Sorgho B., Lecomte-Nana G. L., Blanchart P., & Ouédraogo R. *Advances in Materials* (2020) 9(4), 59.
- [4] Laibi, A. B., Gomina, M., Sorgho, B., Sagbo, E., Blanchart, P., Boutouil, M., & Sohounhoulou, D. K. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* (2017) 11(1), 499-514.
- [5] AFNOR, Association Française de Normalisation. 2001. Blocs de terre comprimée pour murs et cloisons, NF XP P 13-901.
- [6] Doat, P., Hays, A., Houben, H., Matuk, S. and Vitoux, F. *Construire en terre*. Editions Alternatives, 1979, Paris.
- [7] GTR, Guide de Terrassement Routier. 1992. Guide technique: Réalisation des remblais et des couches de forme. Paris-Bagneux: LCPC-SETRA.
- [8] Doat, P., Hays, A., Houben, H., Matur, S. and Vitoux, F. *Construction en Terre par le CRA Terre*. Edition Parenthèses, 1991, Marseille.
- [9] Garcia-Valles M., Alfonso P., Martínez S. & Roca N. *Minerals* (2020) 10(2), 142.
- [10] Ouattara, S. Recherche de briques légères : Conception et caractérisation de briques crues à base d'argile et de sciure de bois, stabilisées au ciment Portland. *Thèse de Doctorat, Université Félix Houphouët Boigny, Abidjan*. 2013.
- [11] Sei, J., Jumas, J. C., Olivier-Fourcade, J., Quiquampoix, H., & Staunton, S. *Clays and Clay minerals* (2002) 50(2), 217-222.
- [12] Brindley G. W., & Nakahira M. *Journal of the American Ceramic Society* (1959) 42(7), 314-318.
- [13] Chen C. Y., Lan G. S. & Tuan W. H. *Ceramics international* (2000) 26(7), 715-720.
- [14] Hu P. & Yang H. *Applied Clay Science* (2013) 74, 58-65.

Valorisation des biomasses locales en biochar : Caractérisation physico-chimiques de biochar élaboré

Valorization of local biomasses into biochar: physico-chemical characterization of elaborated biochar

IBRAHIM GREMA Maman Hamissou^{1*}, YAO Kouassi Benjamin², BROU Yao Casimir³

¹ Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny (INP-HB), Laboratoire de Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles, BP 1093, Yamoussoukro, Côte d'Ivoire, email : maman.ibrahim20@inphb.ci

² Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny (INP-HB), Laboratoire de Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles, BP 1093, Yamoussoukro, Côte d'Ivoire, e-mail : benjamin.yao@inphb.ci

³ Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny (INP-HB), Département de l'Agriculture et des Ressources Animales, BP 1093, Yamoussoukro, Côte d'Ivoire, e-mail : casimir.brou@inphb.ci

Résumé : Les biomasses solides agricoles jadis abandonnés par la population qui dégradent l'environnement, peuvent contribuer à l'atteinte d'autosuffisance alimentaire. Le but de notre travail est de valoriser les déchets solides à des fins agricoles. Il s'agit de transformer ces biomasses solides locales (déchets) en substance utile (biochar) ayant une valeur ajoutée [1]Le biochar est un résidu organique solide obtenu à partir de la pyrolyse de déchets solides. Il modifie les caractéristiques chimiques, physiques et biologiques du sol [2]. L'amendement du sol avec du biochar a un effet bénéfique sur la croissance des plantes ainsi que sur le rendement de culture [3].Celui-ci peut favoriser la croissance de certains groupes d'organismes bénéfiques à la croissance de la plante [4]. Le Biochar à base d'épluchures de manioc a été élaboré par la pyrolyse pendant 3heures à 400°C. Les valeurs respectives de pH, de taux des cendres, de taux d'humidité, de matières sèches, teneurs en COT, N-total et d'indice d'iode sont respectivement 10,75 ;18,525% ; 4,9% ; 95,09% ; 47,3% ; 1,74% ; 666,225mg/g. Ces résultats montrent que le biochar élaboré peut être bénéfique pour l'amendement des sols. Nous envisageons d'effectuer d'autres analyses.

Mots clés (4 mots) : Biomasse solides, Biochar, Amendement, Sol.

Abstract : The agricultural solid biomasses formerly abandoned by the population which degrade the environment, can contribute to the achievement of food self-sufficiency. The aim of our work is to valorize solid waste for agricultural purposes. It is a question of transforming these local solid biomasses (waste) into a useful substance (biochar) with added value [1]. Biochar is a solid organic residue obtained from the pyrolysis of solid waste. It modifies the chemical, physical and biological characteristics of the soil [2]. Soil amendment with biochar has a beneficial effect on plant growth and crop yield [3]. It can promote the growth of certain groups of organisms that are beneficial to plant growth [4]. Biochar from cassava peels was developed by pyrolysis for 3 hours at 400°C. The respective values of pH, ash content, moisture content, dry matter, TOC, N-total and iodine value were 10.75; 18.525%; 4.9%; 95.09%; 47.3%; 1.74%; 666.225mg/g. These results show that the developed biochar can be beneficial for soil amendment. We plan to conduct further analysis.

Keywords (4 words): Biomass solids, Biochar, Amendment, Soil.

Introduction

L'agriculture intensive, l'utilisation des pesticides et des fertilisants chimiques ont au cours des dernières décennies, contribués à l'appauvrissement des terres agricoles, tout en générant des milliers de tonnes de déchets agricoles au monde. La durabilité des systèmes de production agricole est basée sur un équilibre entre les extrants et les intrants de l'exploitation [5]. Il est donc nécessaire d'assurer des apports de fertilisants minéraux et/ou organiques pour maintenir et améliorer la fertilité d'un sol mis en culture.

La Côte d'Ivoire, un pays essentiellement agricole. Sa situation géographique lui offre de réels atouts naturels favorables au développement des cultures. Ce développement a été observé depuis plus de 40 ans. Avec une superficie de 322 462 km², la superficie totale des terres cultivables, selon certaines sources, serait de 40% de la superficie nationale. Le secteur agricole ivoirien qui comprend donc les productions végétales, animales et agro-alimentaires, a contribué fortement au PIB (Produit Intérieur Brut), à l'emploi des jeunes et au développement du pays Selon la Banque Mondiale. Malgré tout cet apport dans l'économie du pays, ce secteur connaît depuis quelques années d'énormes difficultés qui sont due aux effets du changement climatique particulièrement le secteur rural, à la mauvaise pluviométrie et la baisse de la fertilité des sols qui engendre la baisse de rendement de culture[6].

Pour résoudre ces problèmes, l'utilisation de résidu organique solide obtenu à partir d'un est un processus thermochimique permettant de transformer la bio- masse en biochar, biohuile et gaz de synthèse dans un intervalle de température allant de 350 à 700 ° C en l'absence d'air est recommandé par les chercheurs au monde. Le biochar utilisé comme amendement du sol ayant un effet significatif sur la fertilité du sol. Ce qui modifie les caractéristiques chimiques, physiques et biologiques du sol[2].

Il existe différents types de biochars, selon les matériaux utilisés et les conditions de pyrolyse. De plus, les biomasses organiques utilisées pour fabriquer le biochar sont d'origines végétales ou animales et riches en carbone comme le bois, les résidus de récoltes, les excréments d'animaux et les déchets organiques. L'importance de ces déchets pour la production de biochar est un moyen efficace afin de transformer les déchets à substance utile et valeur ajoutée[7]. Il s'agit de produit le biochar à partir d'épluchures de manioc qui est une matière première disponible durant toute l'année par partout en Côte d'Ivoire et le caractériser afin d'amender les sols agricoles ivoiriens. L'amendement du sol avec du biochar a un effet bénéfique sur la croissance des plantes ainsi que sur le rendement de culture [3]. Celui-ci peut favoriser la croissance de certains groupes d'organismes bénéfiques à la croissance de la plante [4].

Matériel et Méthodes

L'épluchure de manioc a été séchée au soleil pendant 5 jours, puis concasser afin de faciliter la pyrolyse. La méthode utilisée est la pyrolyse lente dans un four à moufle à 400°C pendant 3 heures. Les paramètres suivants ont été déterminé : Le pH ; le taux de cendre ; le taux d'humidité ; le taux de matière sèche et indice d'iode et une analyse XRF a été effectuée sur le biochar et matière première afin de déterminer le pourcentage des éléments chimiques.

Il faut noter que le biochar obtenu noté B400°C a été broyé et tamisé à 2mm pour toute les analyses et le pH de matière première, le carbone organique totale et d'azote totale de biochar été de matière première ont été déterminer respectivement par la méthode de Walkley et Black et Kjeldahl.

Les équations suivantes ont permis de déterminer :

$$\text{L'indice d'iode : (Eq.1)} = \frac{(Vb - Vs) \times M \times N \times 1,5}{m_{\text{échantillon}}} \left(\frac{mg}{g} \right)$$

$$\% \text{Carbone organique total : (Eq.2)} = \frac{NFe2 + (Vt - Ve)}{p} \times 0,39$$

$$\% \text{ d'Azote total : (Eq.3)} = \frac{(V - V0) \times N \times 0,014 \times 100}{p}$$

Résultats

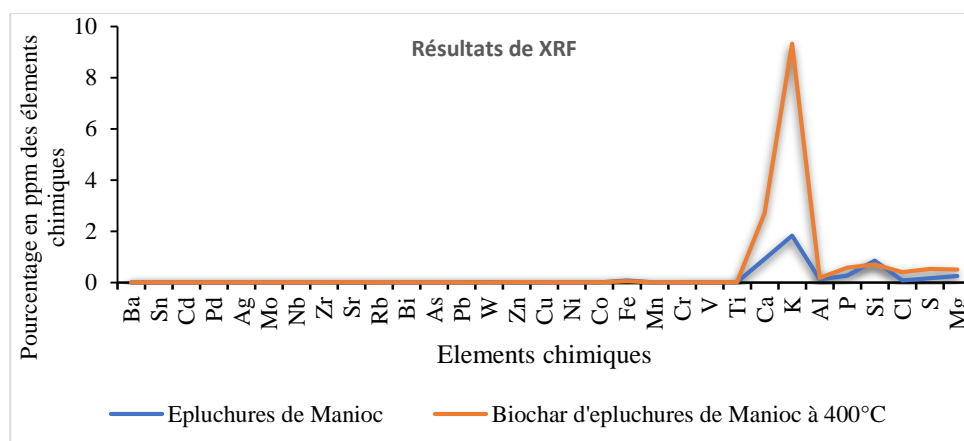


Fig. 1. Résultats de XRF sur la matière première et sur biochar

Tab. 1. Résultats des analyses immédiates sur le biochar et matière première

Analyses Immédiates	pH	Taux de cendre	Taux d'humidité	Taux de matières sèches	Indice d'iode	COT	NT
Matière première	5,6					53%	1,04%
Biochar produit à 400°C pendant 4h	10,75	18,26%	4,9%	95,09%	666,225mg /g	47,3%	1,74%

On observe d'après la fig.1 que le biochar élaboré répond aux exigences de IBI pour les métaux lourds et il pourrait être un bon précurseur pour stimuler la fertilité des sols agricoles.

Le biochar fabriqué a un pH alcalin (Tab.1) et l'augmentation de température de pyrolyse a augmenté légèrement la valeur du pH. Ce résultat est en adéquation avec ceux trouvés par [7] ; le pH des biochars issus des biomasses agricoles varie entre 8.8 et 10.8 selon les conditions de pyrolyse et les biomasses (précurseurs) utilisées. La valeur de l'indice d'iode trouvée (666,225mg/g) confirme la présence des pores microporeux dans biochar.

Références

- [1] C. E. Brewer, Y.-Y. Hu, K. Schmidt-Rohr, T. E. Loynachan, D. A. Laird, et R. C. Brown, « Extent of Pyrolysis Impacts on Fast Pyrolysis Biochar Properties », *J. Environ. Qual.*, vol. 41, n° 4, p. 1115-1122, 2012, doi: <https://doi.org/10.2134/jeq2011.0118>.
- [2] Y. M. Awad, S. S. Lee, K.-H. Kim, Y. S. Ok, et Y. Kuzyakov, « Carbon and nitrogen mineralization and enzyme activities in soil aggregate-size classes: Effects of biochar, oyster shells, and polymers », *Chemosphere*, vol. 198, p. 40-48, mai 2018, doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.01.034.
- [3] L. A. Biederman et W. S. Harpole, « Biochar and its effects on plant productivity and nutrient cycling: a meta-analysis », *GCB Bioenergy*, vol. 5, n° 2, p. 202-214, 2013, doi: <https://doi.org/10.1111/gcbb.12037>.
- [4] Y. M. Harel *et al.*, « Biochar impact on plant development and disease resistance in pot trials », p. 8, 2012.
- [5] Costanza R. *et al.*, « La valeur des services écosystémiques et du capital naturel de la planète », 1998, Consulté le: 20 mai 2022. [En ligne]. Disponible sur: <https://elibrary.ru/item.asp?id=3205>
- [6] L. Konaté Daouda, « L'agriculture ivoirienne confrontée à des difficultés d'ordre climatique, selon des météorologues », *Atooci*, 21 décembre 2017. <http://www.atoo.ci/2017/12/21/lagriculture-ivoirienne-confrontee-a-difficultes-dordre-climatique-selon-meteorologues/> (consulté le 21 décembre 2020).
- [7] Brewer, C.E., Chuang, V.J., Masiello, C.A., Gonnermann, H., Gao, X., Dugan, B., « New approaches to measuring biochar density and porosity - ScienceDirect », <https://www.sciencedirect.com/science/journal/09619534>, vol. Volume66, p. 10, juill. 2014.

Utilisation des déchets agricoles et industriels pour la formulation des matériaux de construction

Use of agricultural and industrial waste for the formulation of building materials

GARBA LABO Mahaman Nazirou^{1*} ; YAO Kouassi Benjamin² ; FANOU Guy Didier³

¹ Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny (INP-HB), Laboratoire de Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles, BP 1093, Yamoussoukro, Côte d'Ivoire, email : labo.garba21@inphb.ci

² Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny (INP-HB), Laboratoire de Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles, BP 1093, Yamoussoukro, Côte d'Ivoire, e-mail : benjamin.yao@inphb.ci

³ Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny (INP-HB), Laboratoire de Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles, BP 1093, Yamoussoukro, Côte d'Ivoire, e-mail guy.fanou@inphb.ci

Résumé : Les déchets industriels et agricoles ont été beaucoup utilisés pour le remplacement partiel du ciment et des agrégats fins en vue d'améliorer les propriétés mécaniques des matériaux de construction [1]. Plus de 45000000 de tonnes d'huiles moteurs usagées sont générées chaque année et seulement 45 % sont éliminées correctement [2]. De plus, environ 160000000 de tonne de balle de riz sont déversées chaque année dans le monde [3]. Ces déchets deviennent un défi écologique mais également une menace pour la santé et l'environnement. Afin de valoriser ces déchets, il est important de connaître leur caractéristique pour une bonne formulation de matériaux de construction. La balle de riz a été collecté, sa teneur en humidité et la perte au feu ont été déterminée. Une teneur en humidité et une perte au feu de 14 % et 8 % respectivement ont été trouvés. Les huiles usagées et la cendre de balle de riz présentent des potentielles pour substituer le ciment et l'argile dans les matériaux de construction. Alors il importe donc de poursuivre les analyses tels que La granulométrie, la FTIR, la DRX, la MEB, le BET, les ATG afin de mieux juger de leur efficacité.

Mots clés : huile moteur usagée ; cendre ; matériaux de construction

Abstract: Industrial and agricultural wastes have been used extensively for the partial replacement of cement and fine aggregates to improve the mechanical properties of building materials [1]. More than 45,000,000 tons of waste motor oil are generated each year and only 45 % is disposed of properly [2]. In addition, 160,000,000 tons of rice husks are dumped each year worldwide. [3]. This waste becomes an ecological challenge but also a threat to health and environment. In order to valorize these wastes, it is important to know their characteristics for a good formulation of construction materials. Rice husk was collected and its moisture content and loss on ignition were determined. A moisture content and loss on ignition of 14 % and 8 % respectively were found. Waste oil and rice husk ash have potential as substitutes for cement and clay in construction materials. Therefore, it is important to continue the analysis such as particle size analysis, FTIR, XRD, SEM, BET, TGA to better judge their effectiveness.

Keyword : waste engine oil ; ash ; building materials

Introduction

Les émissions excessives de dioxyde de carbone, l'un des principaux gaz à effet de serre, et l'énorme consommation d'énergie lors de la production de matériaux de construction traditionnels sont un problème mondial qui doit préoccuper la société [4]. Le secteur de la construction représente environ 40 % des émissions totales de CO₂ et les matériaux de construction conventionnels sont considérés comme les principaux responsables [5]. Selon l'Agence internationale de l'énergie, environ 10 % de l'émission de CO₂ d'origine humaine provient uniquement de l'industrie de ciment [6].

Cependant, près de 24 millions de tonnes métriques d'huiles moteurs usagées sont produites chaque année [2]. La contamination de l'environnement par l'huile moteur usée est courante dans les pays en développement, ce qui pose divers risques pour la santé et l'environnement [7]. Classées en tant que déchets dangereux [8], les huiles usagées contiennent principalement trois types de polluant : les hydrocarbures aliphatiques polycycliques, les métaux lourds et les additifs lubrifiants. D'après PNUE/PAM, 4 litres d'huile usagée peuvent générer une surface de pollution de 4000 m² sur l'eau. De même, lorsque les déchets solides qui ont été en contact avec de l'huile usagée sont brûlés sans prendre des mesures de filtrage de haut niveau technologique, 5 litres polluent l'air qu'une personne peut respirer pendant trois ans [9].

La Côte d'Ivoire est un pays agricole en plein développement et produit entre 15 et 17 millions de tonnes de déchets agricoles par an. De plus les Ivoiriens produisent en moyenne 0,64 kilogramme de déchet par habitant par jour, largement supérieur à la moyenne de l'Afrique sub-saharienne (0,46 kg/j). Ces déchets ne sont quasiment pas valorisés et sont souvent source de maladies pour les plantes, de pollution pour l'environnement et de la santé humaine. Le pays s'est engagé à réduire de 28 % ces émissions de gaz à effet de serre d'ici 2030 [10]. Cela ne peut se faire que par une gestion efficace des déchets.

L'utilisation des sous-produits agricoles sous forme de cendre comme les cendres de coquille de noix de coco [11], [12], les cendres d'épi de maïs [13], les cendres de balle de riz (la balle de riz représente chaque année environ 20 % de la production totale du riz) [14], les cendres de bagasse de la canne à sucre [15], [16], les cendres de paille de blé [17], [18] etc., comme matériaux de remplacement partiel du ciment [19], à cause de leurs propriétés pouzzolanique pour l'amélioration des propriétés mécaniques [20], est devenu aujourd'hui une question d'actualité.

Afin d'atténuer les problèmes liés au dépôt de biomasse, il est essentiel d'utiliser ces matériaux de manière efficace. Une solution à ce problème est l'utilisation de ces déchets dans l'industrie de la construction. En raison du développement massif des infrastructures, la demande de ciment augmente considérablement, ce qui entraîne une augmentation de 30 milliards de tonnes de béton de ciment chaque année. Les cendres de paille et de cosses végétales sont des déchets résiduels contenant de grandes quantités de silice, qui peuvent également être utilisées comme matériau pouzzolanique dans le béton [21]. C'est dans ce sens que cette étude est portée sur la valorisation de la balle de riz et des huiles de vidange pour le remplacement du ciment dans les matériaux de construction.

Matériel et méthodes

La balle de riz a été collectée. La production de la cendre est en cours en utilisant la méthode de pyrolyse dans un four à moufle entre 400°C et 1000°C. La température, la durée et la méthode de broyage sont les conditions qui permettent d'obtenir une cendre à haute réactivité pouzzolanique. Le plan d'expérience sera utilisé pour optimiser la production de la cendre à haute teneur en silice amorphe. Des enquêtes sur la production et la gestion des huiles de vidanges sont en cours.

Résultats

Un taux d'humidité de 11,4 % a été obtenu pour la matière première (balle de riz) en utilisant la méthode de la Norme AFNOR XP CEN/TS 14774. La figure ci-dessous montre les images des cendres produites à différents temps et température.

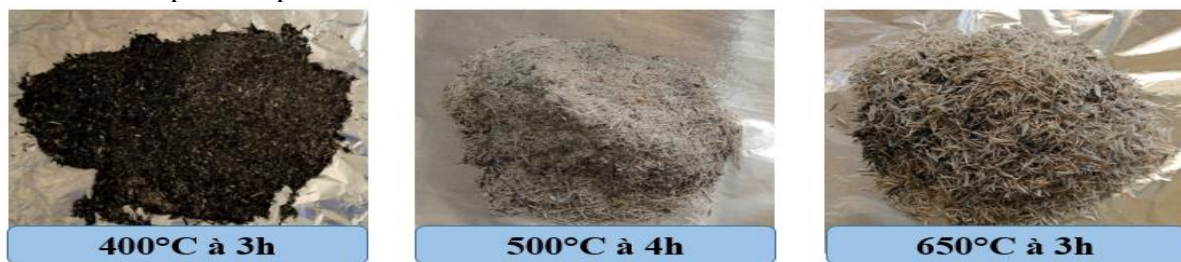


Figure : cendres produites

Référence bibliographique

- [1] C. O. Nwankwo, G. O. Bamigboye, I. E. E. Davies, et T. A. Michaels, « High volume Portland cement replacement: A review », *Construction and Building Materials*, vol. 260, p. 120445, nov. 2020, doi: 10.1016/j.conbuildmat.2020.120445.
- [2] R. Maceiras, V. Alfonsín, et F. J. Morales, « Recycling of waste engine oil for diesel production », *Waste Manag*, vol. 60, p. 351-356, févr. 2017, doi: 10.1016/j.wasman.2016.08.009.
- [3] M. A. Mosaberpanah et S. A. Umar, « Utilizing Rice Husk Ash as Supplement to Cementitious Materials on Performance of Ultra High Performance Concrete: – A review », *Materials Today Sustainability*, vol. 7-8, p. 100030, mars 2020, doi: 10.1016/j.mtsust.2019.100030.

- [4] S. S. Sam, N. Z. Habib, N. C. Aun, C. S. Yong, M. J. K. Bashir, et T. W. Ping, « Blended waste oil as alternative binder for the production of environmental friendly roofing tiles », *Journal de la production plus propre*, vol. 258, n° 120937 urgence-, juin 2020, doi: 10.1016/j.jclepro.200.120937.
- [5] W. P. Teoh, Z. H. Noor, C. A. Ng, et Y. C. Swee, « Catalyzed waste engine oil as alternative binder of roofing tiles – Chemical analysis and optimization of parameters », *Journal of Cleaner Production*, vol. 174, p. 988-999, févr. 2018, doi: 10.1016/j.jclepro.2017.11.015.
- [6] W. Shen *et al.*, « Is magnesia cement low carbon? Life cycle carbon footprint comparing with Portland cement », *Journal of Cleaner Production*, vol. 131, p. 20-27, sept. 2016, doi: 10.1016/j.jclepro.2016.05.082.
- [7] B. Yelemou, H. Gnamou, et G. Yameogo, « Production et gestion des huiles usées de la ville de Ouagadougou, Burkina Faso », *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, vol. 15, n° 3, Art. n° 3, sept. 2021, doi: 10.4314/ijbcs.v15i3.24.
- [8] N. Shafiq, C. S. Choo, et M. H. Isa, « Effects of used engine oil on slump, compressive strength and oxygen permeability of normal and blended cement concrete », *Construction and Building Materials*, vol. 187, p. 178-184, oct. 2018, doi: 10.1016/j.conbuildmat.2018.07.195.
- [9] PNUE/PAM, « -Guide_de_la_gestion_écologiquement_rationnelle_des_huiles_usagées_en_Méditerranée-2015guide_gestion_huiles_usagees.pdf.pdf », 2015.
https://wedocs.unep.org/bitstream/handle/20.500.11822/7781/-Guide_de_la_gestion_%C3%A9cologiquement_rationnelle_des_huiles_usag%C3%A9es_en_M%C3%A9diterran%C3%A9e-2015guide_gestion_huiles_usagees.pdf.pdf?sequence=3&isAllowed=y (consulté le 7 décembre 2021).
- [10] GIZ, « Partnership Ready Côte d’Ivoire :Gestion et recyclage des déchets organiques ». 2020. [En ligne]. Disponible sur: https://www.giz.de/en/downloads/GBN_Sector%20Brief_CIV_Bioabfall_FR_Web.pdf
- [11] O. J. Oyedepo, L. M. Olanitori, et S. P. Akande, « Performance of coconut shell ash and palm kernel shell ash as partial replacement for cement in concrete », *Journal of Building Materials and Structures*, vol. 2, n° 1, Art. n° 1, janv. 2015, doi: 10.34118/jbms.v2i1.16.
- [12] G. Pennarasi, S. Soumya, et K. Gunasekaran, « Study for the relevance of coconut shell aggregate concrete paver blocks », *Materials Today: Proceedings*, vol. 14, p. 368-378, janv. 2019, doi: 10.1016/j.matpr.2019.04.159.
- [13] J. Kamau, A. Ahmed, P. Hirst, et J. Kangwa, « Suitability of Corncob Ash as a supplementary Cementitious Material », *International Journal of Materials Science and Engineering*, vol. 4, n° 4, Art. n° 4, déc. 2016, doi: 10.17706/ijmse.2016.4.4.215-228.
- [14] M. Balapour, E. Hajibandeh, et A. Ramezaniapour, « Engineering Properties and Durability of Mortars Containing New Nano Rice Husk Ash (RHA) », 2018, p. 199-206. doi: 10.1007/978-3-319-59471-2_25.
- [15] L. C. de A. Mello, M. A. S. dos Anjos, M. V. V. A. de Sá, N. S. L. de Souza, et E. C. de Farias, « Effect of high temperatures on self-compacting concrete with high levels of sugarcane bagasse ash and metakaolin », *Construction and Building Materials*, vol. 248, p. 118715, juill. 2020, doi: 10.1016/j.conbuildmat.2020.118715.
- [16] E. M. R. Fairbairn, B. B. Americano, G. C. Cordeiro, T. P. Paula, R. D. Toledo Filho, et M. M. Silvano, « Cement replacement by sugar cane bagasse ash: CO2 emissions reduction and potential for carbon credits », *Journal of Environmental Management*, vol. 91, n° 9, p. 1864-1871, sept. 2010, doi: 10.1016/j.jenvman.2010.04.008.
- [17] S. Luhar, T.-W. Cheng, et I. Luhar, « Incorporation of natural waste from agricultural and aquacultural farming as supplementary materials with green concrete: A review », *Composites Part B: Engineering*, vol. 175, p. 107076, oct. 2019, doi: 10.1016/j.compositesb.2019.107076.
- [18] T. A. El-Sayed et Y. B. I. Shaheen, « Flexural performance of recycled wheat straw ash-based geopolymer RC beams and containing recycled steel fiber », *Structures*, vol. 28, p. 1713-1728, déc. 2020, doi: 10.1016/j.istruc.2020.10.013.
- [19] A. Joshaghani, « Workability retention and mechanical properties of self-compacting concrete (SCC) with sugar cane bagasse ash (SCBA) and rice husk ash (RHA) », in *Concrete and Concrete Structures: A Review and Directions for Research*, 2017, p. 8.
- [20] G. Mounika, R. Baskar, et J. Sri Kalyana Rama, « Rice husk ash as a potential supplementary cementitious material in concrete solution towards sustainable construction », *Innov. Infrastruct. Solut.*, vol. 7, n° 1, p. 51, oct. 2021, doi: 10.1007/s41062-021-00643-5.

OPTIMISATION DU SYSTEME TERNAIRE $\text{AgNO}_3 - \text{KNO}_3 - \text{NaNO}_3$ PAR LA METHODE CALPHAD

Wedjers Max Robin Manouan^{1,2}, Edouard Koffi Kouassi², David Boa², Hmida Zamali³, Dalila Hellali³

¹ Université de Man, UFR ST, Département de Chimie, BP 20 Man, Côte d'Ivoire.

² Université Nangui Abrogoua, UFR SFA, Laboratoire de Thermodynamique et de Physico-Chimie du Milieu, 02 BP 801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire.

³ Université de Tunis El Manar, Faculté des Sciences de Tunis, LR15ES01 Laboratoire de Matériaux, Cristallographie et Thermodynamique Appliquée, 2092, Tunis, Tunisie

Résumé : Le stockage de l'énergie thermique joue un rôle important dans l'utilisation de l'énergie solaire. Les techniques utilisant les matériaux à changement de phases (MCP) sont particulièrement intéressantes en raison de leur densité de stockage élevée et de leur coût relativement bas [1,2]. Ils fonctionnent de façon isotherme. Du fait de leur grande stabilité thermique, leur caractère non corrosif et leurs températures de fusion relativement basses, les mélanges de nitrates d'alcalins et d'argent se positionnent comme des candidats potentiels pour la mise en œuvre de MCP solide-liquide [3,4]. Le présent travail qui est une contribution à l'élaboration de MCP à bas point de fusion ($T < 573\text{K}$) porte sur le système ternaire $\text{AgNO}_3\text{-KNO}_3\text{-NaNO}_3$. L'objectif visé est de repérer les points invariants dans ce système avec un intérêt particulier pour les eutectiques. Par une optimisation basée sur la méthodologie Calphad [5], le diagramme d'équilibre entre phases du système $\text{AgNO}_3\text{-KNO}_3\text{-NaNO}_3$ a été évalué. Nous avons obtenu une réaction eutectique de coordonnées ($T=409,6\text{K}$; $X_{\text{AgNO}_3}=0,48$ et $X_{\text{KNO}_3}=0,44$). Le résultat ainsi obtenu fait de ce système un candidat approprié pour le stockage de l'énergie à température moyenne. Les paramètres thermodynamiques de ce travail seront utiles pour la description des systèmes à base de AgNO_3 , KNO_3 et NaNO_3 .

Mots clés : Optimisation ; Calphad ; Diagramme d'équilibre entre phases ; Système ternaire $\text{AgNO}_3\text{-KNO}_3\text{-NaNO}_3$.

OPTIMIZATION OF THE $\text{AgNO}_3 - \text{KNO}_3 - \text{NaNO}_3$ TERNARY SYSTEM USING CALPHAD METHOD

Abstract: Thermal storage plays an important role in the use of solar energy. Techniques using Phases Changes Materials (PCM) are particularly interesting due to their high storage density and relatively low cost [1, 2]. They work isothermally. Because of their high thermal stability, non-corrosive character and relatively low melting temperature, mixtures of alkali and silver nitrates are potential candidates for solid-liquid PCM [3, 4]. The present work, which is a contribution to the development of low melting point PCM ($T < 573\text{K}$), focuses on the $\text{AgNO}_3\text{-KNO}_3\text{-NaNO}_3$ ternary system. The purpose is to determine the invariant points in this system with particular interest for eutectic. Based on an optimization procedure using the Calphad methodology [5], the phase diagram of the $\text{AgNO}_3\text{-KNO}_3\text{-NaNO}_3$ ternary was evaluated. We obtained a eutectic reaction with coordinates ($T=409.6\text{K}$; $X_{\text{AgNO}_3}=0.48$ and $X_{\text{KNO}_3}=0.44$). The result thus obtained makes this system a suitable candidate for medium temperature energy storage. The thermodynamic parameters of this work will be useful for the description of systems based on AgNO_3 , KNO_3 et NaNO_3 .

Keywords : Optimization; Calphad; Phase diagram; $\text{AgNO}_3\text{-KNO}_3\text{-NaNO}_3$ ternary system.

1. Introduction

Le stockage de l'énergie thermique joue un rôle important dans l'utilisation rationnelle de l'énergie solaire. Parmi les différentes techniques de stockage, il existe celles impliquant les matériaux à changement de phases (MCP). Ces derniers sont particulièrement intéressants en raison de leur densité de stockage élevée et de leur coût relativement bas [1, 2]. Ils absorbent et restituent l'énergie de façon isotherme.

Du fait de leur grande stabilité thermique, leur caractère non corrosif et leurs températures de fusion relativement basses, les mélanges de nitrates d'alcalins et d'argent se positionnent comme des candidats potentiels pour la mise en œuvre de MCP solide-liquide [3,4]. Le présent travail qui est une contribution à l'élaboration de MCP à bas point de fusion ($T < 573\text{K}$) porte sur le système ternaire $\text{AgNO}_3\text{-KNO}_3\text{-NaNO}_3$. L'objectif visé est de repérer les points invariants dans ce système avec un intérêt particulier pour les transformations eutectiques.

A partir d'une procédure d'optimisation basée sur la méthodologie Calphad [5], le diagramme d'équilibre entre phases du système ternaire $\text{AgNO}_3\text{-KNO}_3\text{-NaNO}_3$ a été évalué.

2. Modélisation thermodynamique des phases et principe de calcul

2.1. Modélisation thermodynamique des phases

Les structures stables des nitrates purs (considérés comme constituants du système) à la température de 298,15 K sous une pression de 10^5 Pa sont choisies comme les états de références du système. L'enthalpie libre du constituant i dans la structure Φ est donnée par :

$${}^\circ G_i^\Phi(T) = G_i^\Phi(T) - {}^\circ H_i^{\text{SER}} = a + bT \quad (1)$$

Où, ${}^\circ H_i^{\text{SER}}$ est l'enthalpie de l'élément i dans son état standard de référence (SER) à 298,15 K et 10^5 Pa, T est la température absolue en Kelvin. Les fonctions des enthalpies libres des nitrates purs sont basées sur les données de Hellali et al. [6], Jiriri et al. [7] et de Boa et al. [8].

Le modèle des solutions de substitution a été utilisé pour décrire les différentes phases présentes dans les systèmes binaires. L'expression de l'enthalpie libre molaire dérivant ce modèle est donnée par :

$$G_m^\Phi = \sum_i x_i^\Phi {}^\circ G_i^\Phi + RT \sum_i x_i^\Phi \ln(x_i^\Phi) + G^{\Phi, \text{XS}} \quad (2)$$

x_i^Φ est la fraction molaire du composé i dans la phase Φ .

$G^{\Phi, \text{XS}}$ est l'enthalpie libre d'excès de la solution binaire et s'exprime selon le polynôme de Redlich-Kister [9] par :

$$G^{\Phi, \text{XS}} = x_i^\Phi x_j^\Phi \sum_{v=0}^{v=n} {}^v L_{i,j}^\Phi (x_i^\Phi - x_j^\Phi)^v \quad (3)$$

Les termes ${}^v L_{i,j}^\Phi$ sont les paramètres d'interaction entre les constituants i et j , et peuvent dépendre de la température selon l'expression ci-dessous :

$${}^v L_{i,j}^\Phi = {}^v A_{i,j}^\Phi + {}^v B_{i,j}^\Phi T \quad (4)$$

$i=j=\text{AgNO}_3, \text{KNO}_3$ et NaNO_3 .

Les coefficients ${}^v A_{i,j}^\Phi$ et ${}^v B_{i,j}^\Phi$ sont des constantes obtenues par optimisation.

Parmi les trois systèmes binaires limitrophes, seul le système $\text{AgNO}_3\text{-KNO}_3$ présente un composé intermédiaire : $\text{AgK}(\text{NO}_3)_2$. Ce composé stœchiométrique est décrit par le modèle en sous réseaux : $(\text{AgNO}_3)_a(\text{KNO}_3)_b$. l'enthalpie libre de formation de ces composés nommé $I_a J_b$ ($I=\text{AgNO}_3$ et $J=\text{KNO}_3$) s'exprime comme suit :

$$\Delta_f {}^\circ G_{I_a J_b} = C_1 + C_2 T + C_3 T \ln(T) \quad (5)$$

Où, C_i sont des constantes obtenues par optimisation ; a et b sont les coefficients stœchiométriques.

Dans ce travail, nous adoptons le formalisme de Redlich-Kister-Muggianu [10, 11] pour la représentation des enthalpies libres d'excès des phases ternaires. Ce qui conduit à :

$$G^{\text{XS}} = \sum_i \sum_{j>i} x_i^\Phi x_j^\Phi \sum_{v=0}^{v=n} {}^v L_{i,j}^\Phi (x_i^\Phi - x_j^\Phi)^v + x_i^\Phi x_j^\Phi x_k^\Phi \left(x_i^\Phi {}^0 L_{i,j,k}^\Phi + x_j^\Phi {}^1 L_{i,j,k}^\Phi + x_k^\Phi {}^3 L_{i,j,k}^\Phi \right) \quad (6)$$

$I=j=k=\text{AgNO}_3, \text{KNO}_3, \text{NaNO}_3$.

${}^v L_{i,j,k}^\Phi$ sont les paramètres ternaires, généralement constants à déterminer.

2.2. Présentation de la méthodologie Calphad

L'organigramme ci-dessous (figure 1) résume la méthodologie calphad. A partir des expressions analytiques des enthalpies libres des différentes phases, l'optimisation est réalisée après la compilation et la critique des données expérimentales. Les paramètres ajustés ainsi obtenus permettent d'effectuer le calcul des grandeurs thermodynamiques et des diagrammes d'équilibre entre phases. Les résultats des différents calculs sont comparés aux valeurs expérimentales. S'il y a cohérence entre le calcul et l'expérience, les paramètres thermodynamiques obtenus sont compilés dans une banque de données pour les diverses applications. Sinon, des mesures complémentaires, l'élimination de données incohérentes et une modélisation sont effectuées avant une nouvelle procédure d'optimisation.

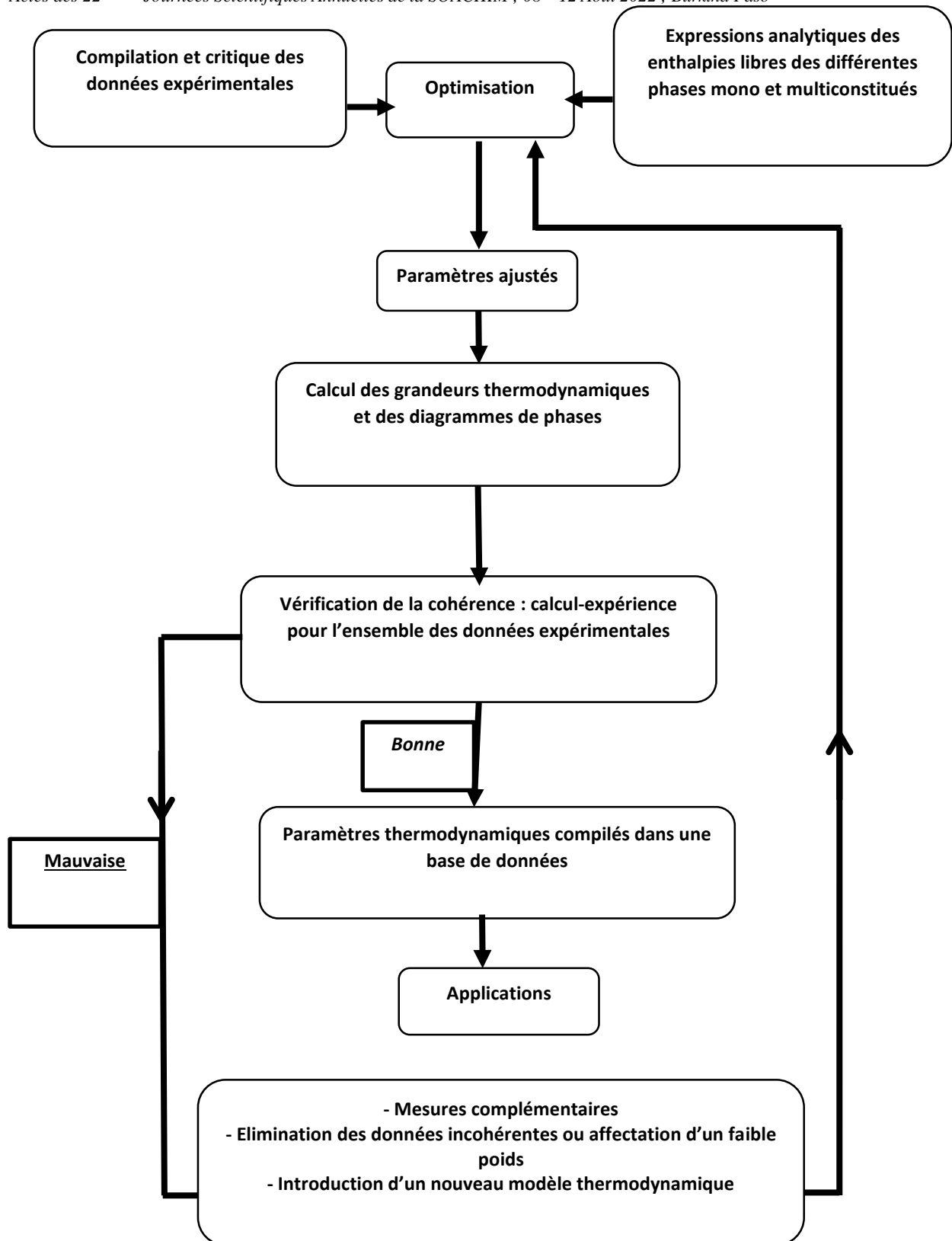


Figure 1 : Organigramme de méthodologie calphad.

3. Résultats et discussions

Le système ternaire $\text{AgNO}_3 - \text{KNO}_3 - \text{NaNO}_3$ a été optimisé en combinant la description thermodynamique des systèmes binaires limitrophes [6 – 8] et les données expérimentales disponibles dans la littérature [12 – 16].

Les enthalpies de mélange calculées à 623 K sont comparées aux valeurs expérimentales de Meschel et Kleppa [12] dans le tableau I. Les écarts entre valeurs calculées et données expérimentales sont nettement inférieurs aux incertitudes expérimentales ($\pm 27 \text{ J.mol}^{-1}$).

Tableau I : Enthalpies molaires de mélange calculées et expérimentales à 623 K [12] dans le liquide ternaire $\text{AgNO}_3 - \text{KNO}_3 - \text{NaNO}_3$

Compositions		Enthalpie de mélange (J.mol^{-1})		
X_{AgNO_3}	X_{KNO_3}	Expérimentale (exp)	Calculée (calc)	exp-calc
0,2519	0,4986	-267,4	-277,5	10,1
0,2517	0,2507	-32,2	-31,1	1,1
0,5007	0,2467	-42,7	-39,6	3,1
0,1248	0,7488	-255,6	-269,2	13,6
0,7509	0,1252	-6,7	-7,3	0,6
0,1247	0,1250	+28,9	+26,4	2,5
0,3354	0,3322	-113,8	-123,0	9,2

La section verticale $X_{\text{AgNO}_3}/X_{\text{KNO}_3} = 1$ est représentée à la figure II. Les liquidus calculés sont en accord avec les données expérimentales. Le calcul permet de mettre en évidence deux réactions invariantes ternaires impliquant le liquide dont les coordonnées sont consignées dans le tableau II.

Tableau 2 : Réactions invariantes dans le système $\text{AgNO}_3 - \text{KNO}_3 - \text{NaNO}_3$.

Réaction	Type	T(K)	Compositions	
			X_{AgNO_3}	X_{KNO_3}
$L + ss1 = \beta\text{AgK}(\text{NO}_3)_2 + \alpha\text{AgK}(\text{NO}_3)_2$	Péritectique Transitoire (U)	410,01	0,29	0,46
$L = \alpha\text{AgK}(\text{NO}_3)_2 + ss1 + ss2$	Eutectique Ternaire (E)	409,6	0,48	0,44

ss1 et ss2 sont les solutions solides continues présentes respectivement dans les systèmes binaires $\text{KNO}_3 - \text{NaNO}_3$ et $\text{AgNO}_3 - \text{NaNO}_3$.

Ces deux invariants ont des températures très voisines.

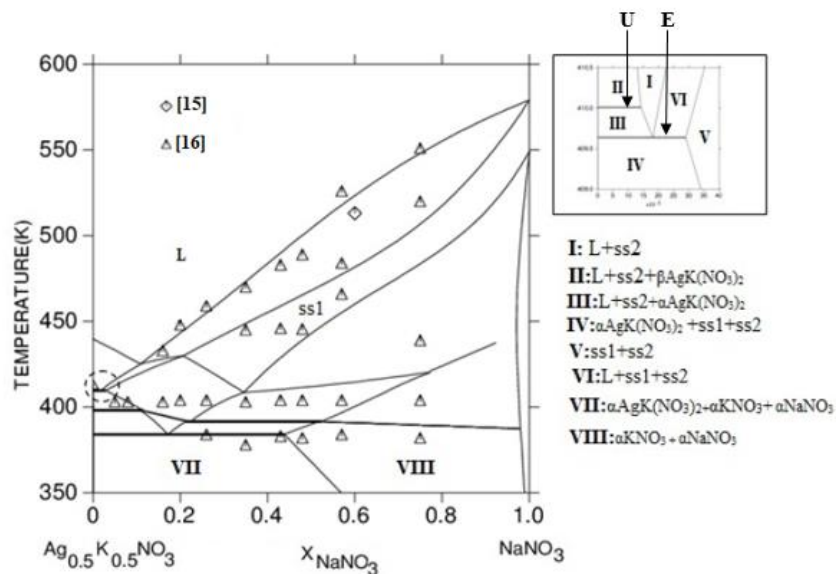


Figure 2 : Section $X_{AgNO_3}/X_{KNO_3} = 1$ calculée et comparée aux données expérimentales [15, 16] dans le système $AgNO_3 - KNO_3 - NaNO_3$.

La projection de la surface du liquidus à 473 K, 513 K et 553 K obtenue par le calcul et présentée à la figure 3 montre un accord satisfaisant avec les données expérimentales.

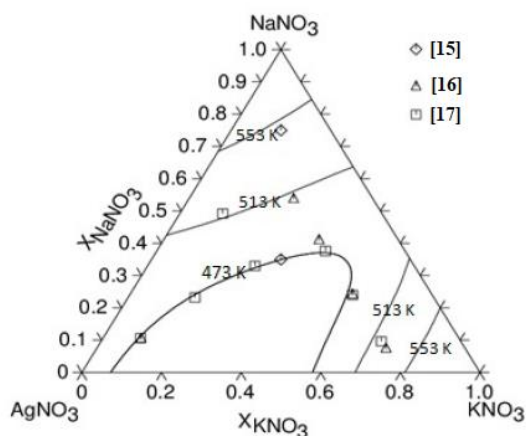


Figure 3 : Liquidus calculé à 473 K, 513 K et 553 K comparé aux points expérimentaux [15 – 17].

4. Conclusion

Sur la base de la description thermodynamique des trois systèmes binaires limitrophes et de l'enthalpie de mélange liquide ternaire, le système $AgNO_3-KNO_3-NaNO_3$ a été optimisé. Un accord général satisfaisant entre le calcul et les données expérimentales est à noter aussi bien pour les grandeurs de mélange que pour les températures d'équilibre. Le diagramme d'équilibre entre phases calculé met en évidence deux réactions invariantes : une de type U et l'autre de type E. Le plus bas point de fusion du système ternaire $AgNO_3-KNO_3-NaNO_3$ est obtenu à 409,6 K et correspond au mélange eutectique : $(AgNO_3)_{0,48}(KNO_3)_{0,44}(NaNO_3)_{0,08}$.

Le résultat ainsi obtenu fait de ce système un candidat approprié pour le stockage de l'énergie à température moyenne.

Les paramètres thermodynamiques de ce travail seront utiles pour la description des systèmes à base de AgNO_3 , KNO_3 et NaNO_3 .

5. Bibliographie

- [1] Gil, A. Medrano, M. Martorell, I. Lázaro, A. Dolado, P. Zalba, B. et Cabeza, L.F. State of the art on high temperature thermal energy storage for power generation. Part 1-Concepts, materials and modellization, *Renew. Sustain. Energy Rev.* 14 (2010) 31–55.
- [2] Pielichowska, K. et Pielichowski, K. Phase change materials for thermal energy storage, *Progress Mater. Sci.* 65 (2014) 67–123.
- [3] Rogez, F. Favotto, C. et Rogez, J. Study of the KNO_3 - LiNO_3 and KNO_3 - NaNO_3 - LiNO_3 eutectics as phase change materials for thermal storage in a low-temperature solar power plant, *Sol. Energy* 95 (2013) 155–169.
- [4] Wang, T. Mantha, D. et Reddy, G. Thermal stability of the eutectic composition in LiNO_3 - NaNO_3 - KNO_3 ternary system used for thermal energy storage. *Sol. Ener. Mat. And Sol.Cells*, 100 (2012) 162 – 168.
- [5] Spencer, P.J. A brief history of CALPHAD. *Calphad* 32 (2008) 1-8.
- [6] Hellali, D.; Boa, D.; Zamali, H.; Rogez, et J.; Jemal, M. Thermodynamic assessment of the ternary AgNO_3 - LiNO_3 - NaNO_3 system. *Calphad* (2011) 35; 95–102.
- [7] Jriri, T. Rogez, J. Mathieu, J.C. et Ansara, I. Thermodynamic analysis of the CsNO_3 - KNO_3 - NaNO_3 system. *Journal of Phase Equilibria*, (1999) 20 (5) ; 515–525.
- [8] Boa, D. Hellali, D. Licbarski, D. Tizzotti, M. Zamali, H. Favotto, C. Benigni, O. et Rogez, J. Experimental investigation and calculation of the binary ($\text{AgNO}_3 + \text{KNO}_3$) phase diagram. *J. Chem. Thermodynamics*, (2015) 81 ; 44–51.
- [9] Redlich, O.; Kister, A.T. Algebraic Representation of Thermodynamic Properties and the Classification of Solutions. *Ind. Eng. Chem.* (1948) 40 ; 345–348.
- [10] Muggianu, Y.M.; Gambino, M.; Bros, J.P. Enthalpies of formation of liquid alloys bismuth-gallium-tin at 723K - choice of an analytical representation of integral and partial thermodynamic functions of mixing for this ternary-system. *Journal De Chimie Physique Et De Physico-Chimie Biologique*, (1975) 72 ; 83–88.
- [11] Hillert, M. Empirical methods of predicting and representing thermodynamic properties of ternary solution phases. *Calphad* (1980) 4; 1–12.
- [12] Meschel, S. V. et Kleppa O. J. Enthalpies of mixing in ternary fused nitrates. *J. of Chem. Phys.*, (1968) 48(1) ; 5146–5154.
- [13] Zsigrai, I.J. et Szecsenyi, K.M. *emf* studies of a ternary molten AgNO_3 - KNO_3 - NaNO_3 system *Electrochimica Acta*, (1993) 38(8) ; 1139–1144
- [14] Palkin, A.P. Gromakov, S.D. Reshetnikov, P.F. et Semenov N.I. *Tr. Voronezhsk. Gos. Univ.*, (1939) 10(4) ; 23
- [15] Baktinov, Y. Darienko, S. et Chervinskii, Y. *Zur. Neorg. Him.*, (1991) 36(11) 2915– 2918.
- [16] Zamali, H. *Thèse d'état ès Sc. Phys., Université de Tunis, Tunisie*, pages 1–172, (1996).
- [17] Guion. J. Analyse thermodynamique des systèmes ternaires de sels fondus : application aux mélanges nitrates alcalins-nitrate d'argent. *J. Chim. Phys.*, (1967) 64 ; 1635–1642.

Durabilité des pates cimentaires amendées à la cendre de balle de riz en milieu acide chlorhydrique

Issiaka Sanou^{1,2}, Moustapha Sawadogo², Tambi Ramdé³, Moussa Ouedraogo^{1,2}, Halidou Bamogo^{1,2}, Mohamed Seynou², Lamine Zerbo², Younoussa Millogo^{1,2}.

¹ Laboratoire de Chimie et Energies Renouvelables (LaCER), Unité de recherche en Physico-Chimie et Technologie des Matériaux (UFR/SEA), Université Nazi BONI, B.P. 1091 Bobo 01, Burkina Faso.

² Laboratoire de Chimie Moléculaire et de Matériaux (LC2M), équipe de physico-chimie et de Technologie des matériaux UFR/SEA, Université Joseph KI-ZERBO 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

³ Laboratoire de Chimie Moléculaire et de Matériaux, Equipe Chimie Physique et Electrochimie ; UFR/SEA, Université Joseph KI-ZERBO 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso

Résumé : L'utilisation de matériaux pouzzolaniques comme ajouts cimentaires est une solution à la réduction du CO₂ causée par la production du ciment et à l'amélioration de la durabilité des produits cimentaires. L'objectif de ce présent travail est d'étudier l'influence de la cendre de balle de riz sur les performances des pates cimentaires en milieu acide chlorhydrique. Pour ce faire, de la cendre a été produite par calcination à 680 °C de la balle de riz avec un palier de 5 heures afin de produire de la pouzzolane réactive. La composition chimique et minéralogique étudiées par ICP-AES et DRX ont montré que cette cendre est riche en silice amorphe avec des indices pouzzolaniques supérieurs à 75%. L'ajout de la cendre de balle de riz (CBR) au ciment favorise la formation des silicates de calcium hydratés (CSH) et des aluminates de calcium hydratés de type C₄AH₁₃ et C₃ASH₆. La présence de CBR dans les pates cimentaires améliore leurs résistances à l'acide chlorhydrique. L'amélioration de cette résistance chimique est due à la formation des CSH résultant de la réaction pouzzolanique entre la silice amorphe de la CBR et la portlandite libérée par l'hydratation du ciment.

Mots clés : Durabilité, acide chlorhydrique, pates cimentaires, cendre de balle de riz et CSH.

Durability of cement pastes modified with rice husk ash in hydrochloric acid medium

Abstract: The use of pozzolanic materials as cementitious additives is a way to reduce the CO₂ production during cement production and improvement of the durability of cementitious materials. The purpose of present work is to investigate on the influence of Rice Husk Ash (RHA) on the performance of cement pastes in hydrochloric acid medium. For this, ash was produced by calcining rice husk at 680 °C for 5 hours to produce reactive pozzolan. The chemical and mineralogical composition of the pozzolan has been assessed by ICP-AES and XRD tests. The results showed that this ash is rich in amorphous silica with pozzolanic indices than 75%. The addition of RHA to cement promoted formation of calcium silicate hydrate (CSH) and calcium aluminate hydrate such as C₄AH₁₃ and C₃ASH₆. The presence of RHA in the cement paste improved their resistance to hydrochloric acid attack. The improvement of this chemical resistance is probably due to formation of the CSH, resulting from the pozzolanic reaction between amorphous silica of the RHA and the portlandite released by hydration of the cement.

Keywords: Durability, hydrochloric acid, cement paste, rice husk ash and CSH.

1. Introduction

Le ciment est un produit nécessaire à la réalisation des travaux de construction. Il se classe au troisième rang de tous les matériaux, devancé seulement par l'acier et l'aluminium [1]. Malheureusement sa production génère beaucoup d'énergie et n'est pas écologique. En effet, la production d'un kilogramme de ciment engendre en moyenne la même quantité de CO₂ [2]. Les industries cimentaires font alors partir des pollueurs atmosphériques mondiaux. Par ailleurs l'hydratation du ciment libère de la portlandite responsable de la faible résistance des mortiers. Aussi les pièces cimentaires sont confrontées à des problèmes de durabilité surtout en milieux agressifs [3]. Pour pallier le problème écologique, énergétique et de durabilité, des substitutions partielles de ciment par des matériaux dits pouzzolaniques sont effectuées. Il est généralement admis que la production des pouzzolanes dégage moins de CO₂ et que leur broyage nécessite moins d'énergie que le clinker. Aussi, l'utilisation de matériaux pouzzolaniques dans le ciment ou dans le béton entraîne une augmentation de la résistance mécanique, de résistance aux sulfates et une diminution de l'activité de l'alcali-silice, de la perméabilité et de la chaleur d'hydratation [4]. La présence de la pouzzolane dans une matrice cimentaire engendre une réaction pouzzolanique entre la portlandite du ciment et la silice amorphe de la phase vitreuse de la pouzzolane. Cela conduit à une augmentation de la formation des silicates de calcium hydratés (CSH),

hydrates responsables de la résistance des produits cimentaires [5]. Parmi ces matériaux pouzzolaniques, la cendre de balle de riz a fait l'objet de plusieurs études en vue de sa valorisation comme ajout cimentaire dans les bétons et mortiers [6,7]. La cendre de la balle de riz est un sous-produit issu de la calcination de matière première végétale de la balle de riz. Elle est composée majoritairement de silice (80-95%) et possède une structure cellulaire microporeuse ce qui aide à sa réactivité pouzzolanique. L'utilisation de la cendre de balle de riz comme pouzzolane dans le ciment permet de réduire la quantité de dioxyde carbone produit lors de la fabrication du ciment. Elle permet également d'améliorer la résistance mécanique des mortiers et bétons et contribue fortement à la durabilité de ces matériaux [7]. Au Burkina Faso, la balle de riz obtenu après décorticage du riz est le plus souvent abandonnée dans la nature donc constitue un déchet environnemental. Afin de pallier ce problème de stockage et du même coup améliorer les propriétés des produits cimentaires, les balles de riz ont été valorisées dans cette étude. L'objectif de ce présent travail est d'étudier l'influence de la cendre de balle de riz sur la durabilité des pâtes cimentaires en milieu acide chlorhydrique. Dans un premier temps la caractérisation et la réactivité pouzzolanique de la cendre de la balle riz seront abordées. Puis suivra l'élaboration des pâtes cimentaires et l'influence de l'acide chlorhydriques sur ces pâtes.

2. Matières premières et méthodes expérimentales

2.1. Caractérisation des matières premières

La cendre de balle de riz utilisée dans cette étude a été obtenue par calcination à 680 °C d'un échantillon de balle de riz prélevé dans la commune rurale de Bama au Burkina Faso. La calcination a lieu dans un four de type NABERTHERME C250 avec une vitesse de montée de 10 °C/mn pour un palier de 5 heures.

Quant au ciment dont la composition chimique et minéralogique sont consignées dans le **tableau 1**, il provient de la société Diamond Cement du Burkina Faso.

Tableau 1 : Composition chimique et minéralogique du ciment utilisé [8]

Composition chimique (%)	SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	MgO	CaO	P ₂ O ₅	SO ₃	Na ₂ O	K ₂ O	F.L	I.R.	L.O.I.
	20,12	5,73	4,06	1,18	64,82	0,39	2,68	0,08	0,17	0,8	0,28	0,27
Minéralogie (%)	C ₃ S			C ₂ S		C ₃ A			C ₄ AF			
	55,7			15,68		8,31			12,34			

F.L : Free Lime, I.R : Insoluble residues L.O.I : Loss On Ignition.

L'analyse chimique de la BRC a été réalisée par ICP-AES. La composition chimique donnée par le **tableau 2** montre que la cendre de balle de riz est majoritairement constituée de la silice à hauteur de 96,84% en masse. Cette valeur est légèrement supérieure à celle donnée par la littérature, qui indique un maximum de 96% en masse de silice [7]. La BRC est pauvre en alcalins car la somme des oxydes alcalins Na₂O et K₂O de 0,84% est inférieure à la valeur minimale de 0,95% donnée par la littérature [7]. Par ailleurs, la somme des oxydes SiO₂, Al₂O₃ et Fe₂O₃ est supérieure à la valeur minimale de 70% fixée la norme ASTM C-618 [9]. La teneur en verre (SiO₂ – CaO) de 96,37% est nettement au-delà à la valeur minimale de 34%. Ces différents résultats laisse présager que la cendre de balle de riz est une pouzzolane très réactive. La somme total des oxydes analysés (99,98%) montre qu'elle ne contient quasiment pas de carbone voire à l'état de trace. Cette faible teneur en carbone de la BRC améliore sa réactivité pouzzolanique. La présence en quantité importante de carbone dans les matériaux est la source de formation de pores, et influence négativement la durabilité des matériaux élaborés [6].

Tableau 2 : Analyse chimique élémentaire de BRC

oxydes	SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	TiO ₂	Na ₂ O	MgO	K ₂ O	CaO	Total
%	96,84	1,03	0,38	0,1	0,03	0,32	0,81	0,47	99,98

Le diffractogramme de la BRC (**figure 1**) présente une large bosse (halo) centrée au environ de 22° (2θ) indiquant la présence de phases amorphes. La silice, élément principal de la cendre de balle de riz, est

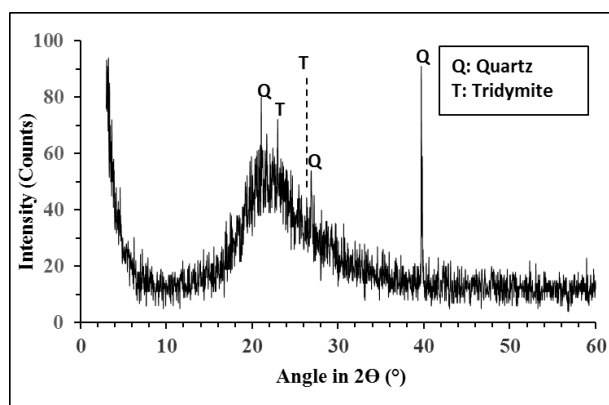


Figure 1 : Diffractogramme de la BRC

2.2. Activité pouzzolanique

2.2.1. Méthodes chimiques

Le test de Frattini est la méthode chimique utilisée pour la détermination de l'activité pouzzolanique. D'abord, le mode opératoire du test de Frattini consiste à préparer un mélange de 20 g, composé de 80% de ciment portland CEM-I avec 20% de BRC ajouté à 100 mL d'eau distillée. Le mélange est conservé à la température de 40 °C pendant huit (08) jours dans des boîtes en plastiques hermétiquement fermées. Après ces huit jours, le mélange est filtré avec du papier filtre sans cendre. Les ions hydroxydes (OH⁻) contenus dans le filtrat sont ensuite dosés par une solution diluée d'acide chlorhydrique à 10⁻¹ mol.L⁻¹ en utilisant l'orange de méthyle comme indicateur coloré. Puis les ions calcium (Ca²⁺) à leur tour seront dosés par une solution d'EDTA à 0,03 mol.L⁻¹ avec l'utilisation de Patton and Reeders comme indicateur coloré. Les résultats obtenus sont illustrés par un graphique donnant la concentration des ions Ca²⁺ exprimé en mmol.L⁻¹, équivalent à la quantité de CaO en fonction de la concentration en ion OH⁻ exprimé aussi en mmol.L⁻¹ [11].

2.2.2. Réactivité minéralogique

Après le test de Frattini, les résidus obtenus ont été finement broyés puis soumis à l'analyse. Qualitativement, la diffraction des rayons X a été utilisée pour l'identification des phases cristallines formées. Le diffractomètre utilisé est un Brüker AXS, avec la radiation CuK α comme source de rayonnement et un monochromateur arrière en graphite.

2.2.3. Indice pouzzolanique

L'indice pouzzolanique constitue le rapport de la résistance mécanique à la compression à 28 jours des mortiers contenant de la BRC et ceux n'en contenant pas appelés mortiers de référence. Le mode opératoire de détermination de l'indice pouzzolanique consiste à préparer d'abord le mortier de référence constitué d'un mélange de 1350 g de sable normalisé avec 450 g de ciment portland artificiel (CPA) et 225 mL d'eau déminéralisée. Ensuite on reprend le mélange précédent mais en faisant des substitutions allant de 15 à 25% de ciment avec de la BRC. Les mortiers ont été formulés suivant la norme NF-P-15-403 [12]. Les mortiers sont gardés dans une chambre froide puis démoulés 24 heures après. Ils sont ensuite conservés dans de l'eau à 20 °C pendant 28 jours pour enfin subir l'essai de la compression mécanique.

2.3. Diffusion des ions chlorure dans les pates cimentaires

La diffusion des ions chlorures à travers nos pates cimentaires a été évaluée par la spectrométrie d'impédance électrochimique (SIE). La SIE est un outil fiable pour analyser les processus électrochimiques qui se produisent entre les matériaux et leurs interfaces avec des électrodes conductrices électriquement. L'utilisation de la spectroscopie d'impédance électrique (EIS) comme

outil de caractérisation dans l'étude des matériaux à base de ciment a été bien documentée [13,14]. Cette technique est utilisée pour étudier le comportement de charges fixes ou mobiles à travers la partie homogène ou interfaciale des matériaux, qu'ils soient solides, liquides ou gazeux. Le test a été réalisé sur des éprouvettes parallélépipédique (**figure 2**) contenant des proportions diverses de la cendre de balle de riz (**tableau 3**). Le mode opératoire consiste à immerger dans une solution d'acide chlorhydrique à 1 M les éprouvettes puis à des intervalles de temps réguliers à 1 h, 1, 3, 4 et 5 jours, les spectres d'impédance électrochimiques sont enregistrés. Les différentes mesures ont été réalisées avec potentiostat/galvanostat de marque Solartron, modèle 1280B, piloté par un micro-ordinateur pour une souplesse dans l'acquisition et le traitement des données (**figure 3**). La gamme de fréquence balayée est de 10 mHz à 20 kHz et avec une perturbation sinusoïdal de 250 mV. Le logiciel d'acquisition des données est Zplot et celui de traitements de ces données est Zview. La conductivité effective des éprouvettes (σ_{eff}) est déterminée à partir de la résistance R_b obtenue par le traitement des données de la spectroscopie d'impédance électrochimique. Une représentation de diagramme d'impédance de type Nyquist présentant l'impédance imaginaire en fonction de l'impédance réelle est donnée par la **figure 4**. L'abscisse de l'intersection des deux arcs correspond à la résistance R_b . A partir de cette résistance on en déduit la conductivité effective (σ_{eff}) en utilisant la relation suivante [15]:

$$\sigma_{eff} = \frac{L}{R_b A}$$

Où L et A sont respectivement la longueur entre le fil et la surface d'exposition de l'échantillon et la section.

Tableau 3 : Proportion des mélanges

Nuances	P ₀	P ₁₅	P ₂₀	P ₂₅
Ciment (g)	50	42,5	40	37,5
BRC (g)	0	7,5	10	12,5
Eau (g)	20	22,5	25	27,5



Figure 2 : Images des pates cimentaires

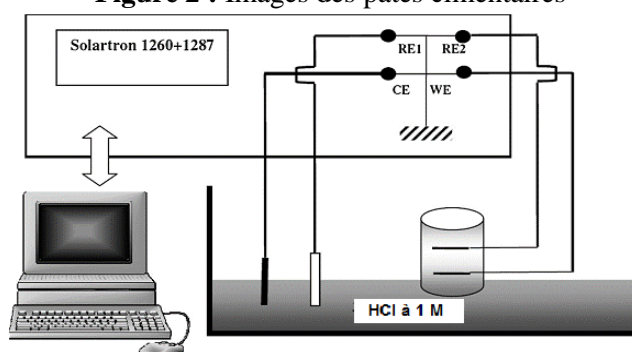


Figure 3 : Dispositif électrochimique utilisé

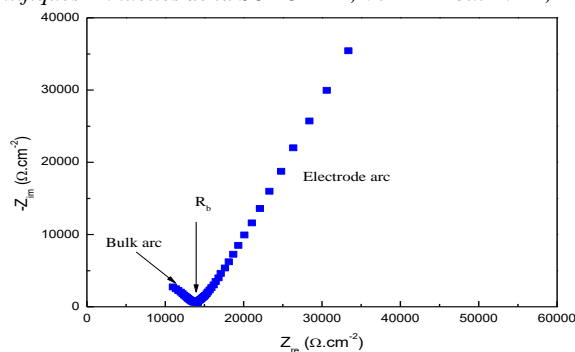


Figure 4 : Diagramme d'impédance en représentation de Nyquist

3. Résultats et discussion

3.1. Activité pouzzolanique

3.1.1. Test de Frattini

La figure 5 donne la courbe de solubilité de la portlandite et la position de la BRC et du ciment CPA par rapport à cette courbe. De cette figure on en déduit que le CPA situé en dessus de la courbe de solubilité ne présente aucune activité pouzzolanique. Tandis que la BRC située en dessous de cette même courbe a un caractère pouzzolanique [16].

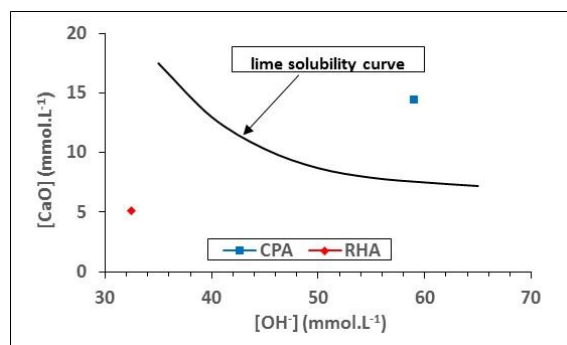


Figure 5 : Les résultats du test de Frattini

3.1.2. Réactivité minéralogique

La réaction du ciment portland avec l'eau résulte la formation de différents produits d'hydratation. La portlandite libérée est requise pour la réaction pouzzolanique. Cette portlandite en présence de matériaux pouzzolaniques actifs peut conduire à la formation de nouveaux produits d'hydratation similaire à ceux formés par l'hydratation du ciment. C'est ainsi qu'après le test de Frattini les résidus obtenus ont été broyé finement et soumis à la diffraction des rayons X. La figure 6 représente les diffractogrammes du CPA et de la BRC obtenus.

Le dépouillement des diffractogrammes met en évidence la présence de la portlandite (CH). Cependant avec une diminution de l'intensité des pics relatifs à la portlandite au niveau du mélange contenant la BRC. Cette diminution s'explique par la consommation de la portlandite par la BRC d'où sa réactivité pouzzolanique [17]. Aussi, la présence de l'étringite ($C_6A\bar{S}_3H_{32}$) est signalée dans les deux diffractogrammes. Par ailleurs l'ajout de la BRC au ciment entraîne la formation de phases néoformées de type aluminates de calcium hydratés qui sont C_4AH_{13} et C_3ASH_6 [16]. En effet, la présence de ces hydrates n'est observable que dans les mélanges contenant du ciment et de la BRC. En outre La présence du quartz a été détectée également. Mais on remarque que son pic est plus intense au niveau des mélanges ciment-BRC, il s'agit du quartz résiduel n'ayant pas participé à la réaction pouzzolanique. D'autres phases anhydres des ciments tels que l'albite (C_3S) et la bélite (C_2S) sont aussi présents [18,19].

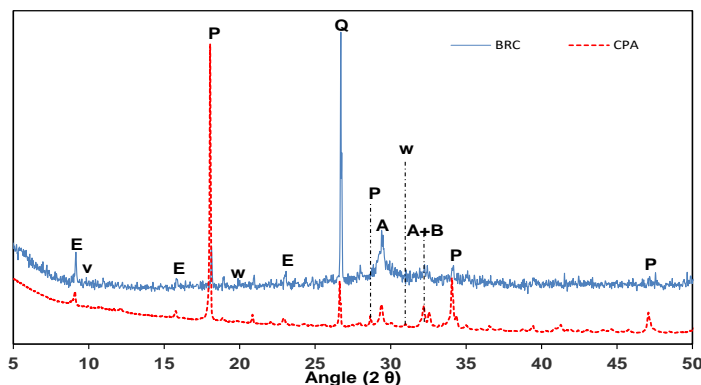
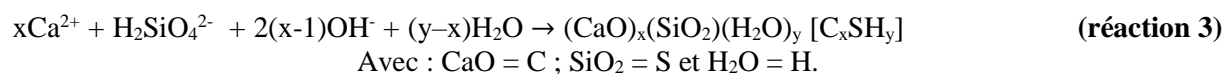
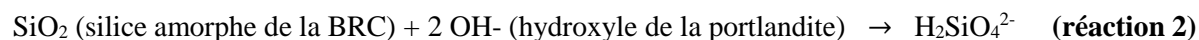
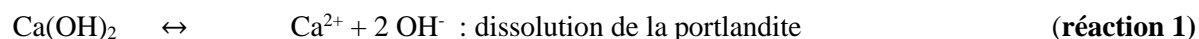


Figure 6 : Diffractogrammes des résidus obtenus après le test de Frattini

3.1.3. Indice pouzzolanique

L'indice pouzzolanique résultant du remplacement partiel de 15, 20 et 25% de cendre de balle de riz par du ciment (**figure 7**) est supérieur à la valeur minimale de 75% exigée par la norme ASTM C 618 [9]. Cela est dû à la formation des CSH, hydrates responsables de la résistance mécanique des matériaux cimentaires.

En effet, les silicates de calcium hydratés (CSH) résultent de la réaction pouzzolanique entre la silice amorphe (SiO_2) de la BRC et la portlandite (CH) libérée par l'hydratation du ciment suivant les réactions **1**, **2** et **3** [20,21]:



La BRC a donc des propriétés pouzzolaniques, elle peut donc être utilisée comme substituant du ciment dans la formulation des pâtes cimentaires.

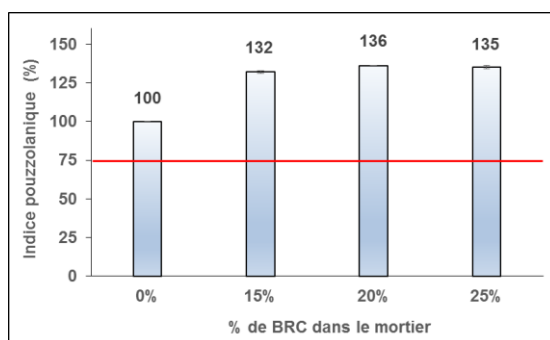
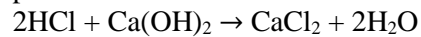


Figure 7 : Indices pouzzolaniques de la BRC

3.2. Durabilité des pâtes cimentaires en milieu agressif

La durabilité des pâtes cimentaires en milieu agressif a été déterminée par spectrométrie d'impédance électrochimique. Les valeurs des résistances ohmiques des matériaux (R_{mat}) consignées dans le **tableau 4** ont été déduites par le tracé type de Nyquist donné par les **figures 8, 9, 10, 11 et 12**. D'abord, on constate que les pâtes amendées à la BRC présentent les résistances meilleures à celle de la pâte non amendée (P_0). On peut donc affirmer que la BRC a joué un rôle important pour permettre aux pâtes avec ajouts de BRC de résister à l'agression de l'acide chlorhydrique. La faible résistance de la pâte non amendée pourrait s'expliquer par la conductivité de ce matériau. En effet l'immersion de ce matériau entraîne la forte libération de la portlandite lors de l'hydratation du ciment. Cette libération engendre la

production des ions Ca^{2+} et OH^- rendant ainsi le matériau plus conducteur. Par ailleurs, la présence de la portlandite en quantité importante a un effet néfaste sur la résistance ce qui rend le matériau plus perméable. De plus, la réaction pouzzolanique fixant la chaux, les pores capillaires sont réduits par formation des gels de CSH, bloquant ainsi l'absorption de la solution acide, d'où l'augmentation de la résistance pour l'ensemble des pâtes avec ajouts par rapport à la pâte sans ajout [22]. Aussi, la présence de l'acide entraîne la **réaction 5** ci-dessous, permettant la formation de sel de calcium (CaCl_2) fortement soluble. Ces sels sont facilement enlevés de la pâte cimentaire affaiblissant de ce fait la structure de la pâte.



(**réaction 5**)

En outre, d'autres auteurs ont attribué la résistance à l'attaque chimique des matériaux pouzzolaniques aux phénomènes suivants [23,24] :

(a) Les matériaux pouzzolaniques réduisent la perméabilité, prévenant ainsi l'entrée de l'eau et le transport des alcalis et ions hydroxydes.

(b) Les matériaux pouzzolaniques augmentent la résistance et la rigidité entraînant ainsi une meilleure résistance aux fissures et une faible expansion.

(c) Le remplacement d'une proportion de ciment avec un peu de matériau pouzzolanique alcaline réduit la quantité total d'alcali présent.

(d) Les pouzzolanes réagissent avec l'hydroxyde de calcium pour former les silicates de calcium hydratés avec un faible ratio CaO/SiO_2 . La formation des CSH réduit le taux de la portlandite et le faible ratio C/S rend possible l'attachement des alcalis, réduisant ainsi la quantité des ions hydroxydes disponible pour participer à l'attaque. Les résistances ohmiques des pâtes cimentaires diminuent lorsque le taux de BRC augmente. Ainsi, la pâte P_{15} contenant 15% de BRC présente la meilleure résistance à toutes les échéances de la période d'immersion. La teneur 15% alors représente le pourcentage optimal pour obtenir une meilleure résistance à l'acide chlorhydrique.

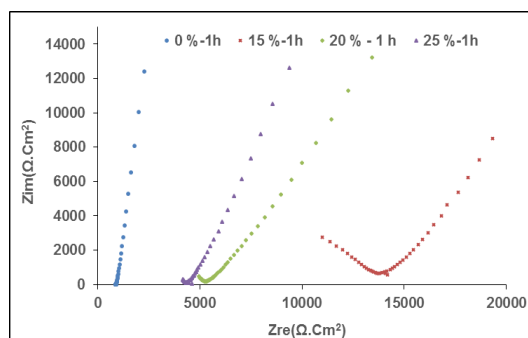


Figure 8 : Tracé de Nyquist pour 1 h d'immersion

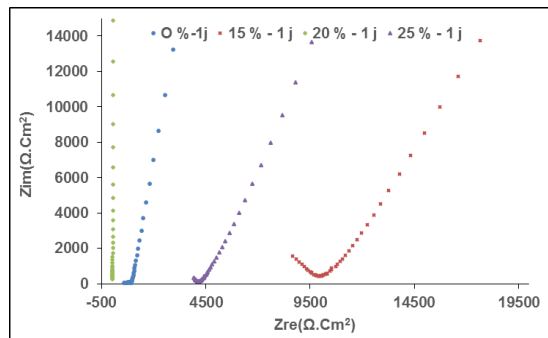


Figure 9 : Tracé de Nyquist pour 1 jour d'immersion

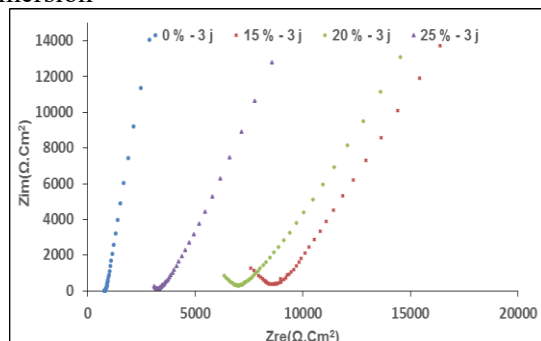


Figure 10 : Tracé de Nyquist pour 3 jours d'immersion

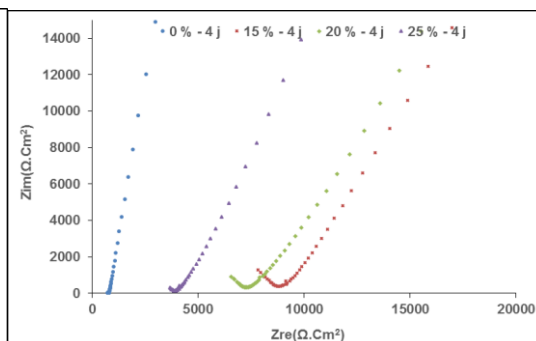


Figure 11 : Tracé de Nyquist pour 4 jours d'immersion

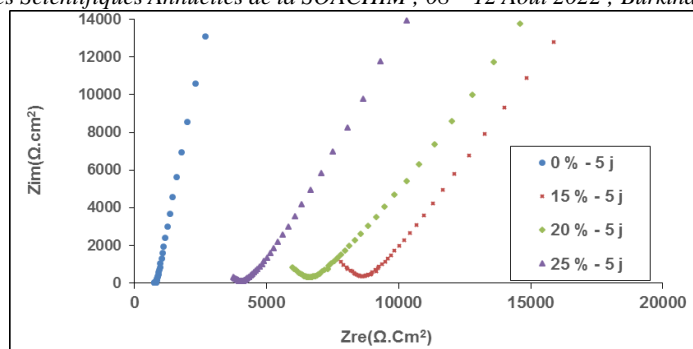


Figure 12 : Tracé de Nyquist pour 5 jours d’immersion

Tableau 4 : Valeurs des résistances des pâtes immergées dans la solution de HCl

Pâtes Cimentaires	Temps d’immersion				
	1 h	1 jour	3 jours	4 jours	5 jours
	Valeurs de R_{mat} ($\Omega.Cm^2$)				
P ₀	-	966	-	-	-
P ₁₅	14075	9950	8700	8950	8760
P ₂₀	5125	-	6850	7215	6470
P ₂₅	4210	4035	3150	3765	3940

4. Conclusion

A la lumière des essais réalisés au cours de ce travail nous pouvons tirer les conclusions suivantes :

- La calcination de la balle de riz à 680 °C avec 5 heures de palier a permis d’obtenir de la cendre très réactive.
- La caractérisation de cette cendre a montré qu’elle est riche en silice amorphe (96,84%) avec une teneur en verre élevée (96,37%) et des indices pouzzolaniques supérieures à valeur minimale de 75%.

- La substitution partielle du ciment par la BRC entraîne la formation des silicates de calcium hydratés CSH et des aluminates de types C_4AH_{13} et C_3ASH_6 .

- La présence de la BRC dans les pâtes cimentaires améliore leurs résistances à l’acide chlorhydrique due à la réactivité pouzzolanique entre la silice amorphe de la BRC et la portlandite libérée par l’hydratation du ciment.

En somme, l’utilisation de 15% de BRC dans la formulation des pâtes cimentaires permet de réduire la consommation en ciment et améliore la résistance à l’acide chlorhydrique. Cependant, des essais complémentaires sont nécessaires pour confirmer et développer ces résultats : augmentation de la durée de cure des pâtes, puisque la pouzzolane réagit à long terme.

Bibliographie

- [1] : Thiam A., Alpha O.T., Fadila M.S., Gueye C.M.D. : Ajout du mélange de silicate de calcium et de fluorure de calcium à des mortiers à base de clinker. Journal de la Société Ouest Africaine de Chimie 40 (2015), 41-44.
- [2] Hossain M.M, Karim M.R, Hossain M.K, Islam M.N, Zain F.M.M. : Durability of mortar and concrete containing alkali-activated binder with pozzolans: A review. Construction and Building Materials 93 (2015), 95–109.
- [3] Chaib O., Mouli M., Hanifi M., Hamadache M.: Etude de l’influence des paramètres de la pouzzolane naturelle sur la résistance mécanique des mortiers à base de ciments composés. Journal of Materials and Environmental Science 7 (2) (2016), 422-428.
- [4] Sabir B B, Wild S, Bai J. Metakaolin and calcined clays as pozzolans for concrete : a review. Cement Concrete Composite 2001 ; 23 (6) : 441-454.
- [5] Younoussa M., Jean-Claude M.: Microstructural characterization and mechanical properties of cement stabilised adobes. Materials and Structures (2012) 45: 1311-1318.

- [6] Venkatanarayanan H.K, Rangaraju P.R : Effect of grinding of low carbon rice husk ash on the microstructure and performance properties of blended cement concrete. *Cement and concrete composites* 55 (2015), 348-363.
- [7] Harish K.V., Rangaraju P.R. : Material characterization studies on low-and high-carbon rice husk ash and their performance in Portland cement mixtures. *Advances in Civil Engineering Materials* 2 (1) (2013), 266-287.
- [8] Dao K., Ouedraogo M., Millogo Y., Aubert J-E., Gomina M. : Thermal, hydric and mechanical behaviours of adobes stabilized with cement. *Construc. Build. Mater.* 158 (2018) 84-96.
- [9] Norme, ASTM Standard, C 618 Standard Specification for coal Fly Ash and Raw or Calcined Natural Pozzolan for Use in Concrete, West Conshohocken, PA : Annual Book of ASTM standards, ASTM International (2008).
- [10] Erika Y. N., Moisés F., Sagrario M-R, Sérgio F.S, Michelle S. R., Olga R., Holmer S.J. : Charaterisation and properties of elephant grass ashes as supplementary cementing material in pozzolan/Ca(OH)₂ pastes. *Construction and Building Materials* 73 (2014), 391-398.
- [11] Donatello S., Tyrer M., Cheeseman C.R : Comparison of test methods to assess pozzolanic activity. *Cement and Concrete Composites* 32 (2010), 121-127.
- [12] NF P15-403 : "Sable normal et mortier normal" AFNOR-Paris (1996).
- [13] W.J. McCarter, G. Starrs, T.M. Chrisp, Immitance spectra for Portland cement/fly ash based binders during early hydration, *Cem. Concr. Res.* 29 (1999) 377–387.
- [14] W.J. McCarter, T.M. Chrisp, G. Starrs, J. Blewett, Characterization and monitoring of cement based systems using intrinsic electrical property measurements, *Cem. Concr. Res.* 33 (2003) 197–206
- [15] Hugo Mercado, Sylvie Lorente, Xavier Bourbon Chloride diffusion coefficient: A comparison between impedance spectroscopy and electrokinetic tests, *Cement & Concrete Composites* 34 (2012) 68–75.
- [16] I. Sanou, M. Seynou, L. Zerbo, Y. Millogo, R. Ouedraogo, A. Sana: Evaluation of Pozzolanic Activity of Illitic and Lateritic Raw Materials from Burkina Faso. *Chemical Science International Journal* 18 (1) : 1-13, 2017.

Propriétés physiques et mécaniques des adobes renforcés au ciment et aux fibres de kenaf

Issiaka Sanou^{1,2}, Kalifala Dao², Moussa Ouedraogo^{1,2}, Halidou Bamogo^{1,2},

Kouka Amed Jeremy Ouedraogo³, Jean-Emmanuel Aubert³, Younoussa Millogo^{1,2}.

¹ Laboratoire de Chimie et Energies Renouvelables (LaCER), Unité de recherche en Physico-Chimie et Technologie des Matériaux (UFR/SEA), Université Nazi BONI, B.P. 1091 Bobo 01, Burkina Faso.

² Laboratoire de Chimie Moléculaire et de Matériaux (LC2M), équipe de physico-chimie et de Technologie des matériaux UFR/SEA, Université Joseph KI-ZERBO 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

³ Laboratoire de Matériaux et de Durabilité des Constructions (LMDC), Université de Toulouse, INSA/UPS Génie Civil, 135 Avenue de Rangueil, 31077 Toulouse cedex 04 France de Toulouse

Résumé : L'objectif de cette étude est d'obtenir des adobes présentant de bonnes propriétés physiques, mécaniques et thermiques pour la construction d'habitats durables. Pour ce faire, une argile du Burkina Faso composée de quartz (49%), de la kaolinite (28%), de la muscovite (9%) et de la goethite (7%) a été ajoutée au ciment (2%) puis renforcée aux fibres de kenaf de 1,5 cm de longueur à des proportions allant jusqu'à 1% pour la formulation des adobes. La microstructure des adobes élaborés est dominée par une diminution de fissures et de pores pour des compositions en fibre relativement faible. Ainsi, l'ajout de fibre diminue l'effet de l'érosion grâce à une bonne adhérence entre la matrice argilo-cimentaire et les fibres. Aussi la présence de fibres à des teneurs inférieures à 0,2% améliore la résistance mécanique des adobes. Par ailleurs la conductivité thermique des adobes a diminué avec la présence des fibres due à la présence de la cellulose contenue dans les fibres.

Mots clés : ciment, fibre de kenaf, adobes, cellulose, microstructure, conductivité thermique.

Physicals and mechanicals properties of adobes reinforced with cement and kenaf fibers

Abstract: The purpose of this study is to obtain the adobes with good physicals, mechanicals and thermal properties for the building of sustainable habitats. For do this, a clay of Burkina Faso consist of quartz (49wt%), kaolinite (28 wt%), muscovite (9wt%) and goethite (7wt%) have been added to cement (2wt%) and reinforced by Kenaf fibers of 1.5 cm of length at the proportions up to 1wt% for the adobes manufacturing. The elaborated adobes microstructure is dominated by the decrease of cracks and pores for the feeble proportions in fibers. Thus the fiber addition decrease erosion effect due to the good adherence between clay-cement matrix and fibers. So the presence of fibers at contents less than 0.2wt% improve the mechanical strength of adobes. Furthermore, the adobes thermal conductivity decreases with the presence of fibers due to the presence of cellulose contained in the fibers.

Keywords: cement, kenaf fibers, adobes, cellulose, microstructure, and thermal conductivity.

1. Introduction

Se loger décentement avec des moyens limités mobilisent aujourd'hui beaucoup de chercheurs aussi bien des pays développés que ceux en voie de développement. La production de ciment pour la construction est très coûteuse du fait de la forte demande en énergie pour la fabrication du clinker. A cela s'ajoute l'impérieuse nécessité de préserver l'environnement. En effet, des études montrent que la production du clinker (principal constituant du ciment) dégage environ 5% des gaz à effet de serre [1].

Beaucoup de pays essayent d'établir une politique énergétique cohérente qui permet d'amorcer une transition vers d'autres sources d'énergie, vers d'autres formes d'utilisation énergétique et vers d'autres comportements face aux ressources naturelles [2, 3]. Recourir donc aux écomatériaux reste une alternative salvatrice face à cette double problématique de réduction des coûts de construction et de préservation de l'environnement. Plusieurs travaux de recherche sont menés dans le monde sur les procédés de valorisation de diverses formes de biomasse afin d'apporter des solutions aux problèmes de l'énergie et de l'environnement [4, 5]. De récentes études sur le renforcement des briques en terre dans la construction par différents types de fibres végétales (noix de coco, palmier à huile, de sisal, Kenaf,

...) ont permis de réduire les fissures dans les adobes naturels et ont amélioré la durabilité des adobes [6-8]. Ces études ont porté peu d'attention sur les aspects thermiques. Tenant compte des résultats intéressants obtenus par Dao et al. [9], sur les adobes stabilisés par le ciment du point de vue mécanique et aussi du coût élevé du ciment au Burkina Faso, dans la suite du travail, les adobes stabilisés avec 2% de ciment et avec des fibres de Kenaf de variété (*Hibiscus altissimus*) longues de 1,5 et 3 cm avec des teneurs en masse allant jusqu'à 1% seront élaborés. Une étude corrélatrice entre la microstructure et les propriétés physiques et mécaniques sera réalisée.

2. Matières premières et procédures expérimentales

La matière argileuse utilisée a été prélevée dans la région du centre du Burkina Faso. Elle est riche en quartz (49%) et en kaolinite (28%) mais pauvre en muscovite (9%) et en goethite (7%). Le ciment CPA 45 de Diamond cement constitué de 55,70% de C3S, 15,68 de C2S, 8,31% de C3A et 12,34% de C4AF, a une densité apparente de 1,06 et un temps de début de prise de 3 heures. Les fibres de Kenaf ont été extraites d'un champ expérimental de l'INERA dans le village de Farakobâ à la sortie Ouest de Bobo – Dioulasso. Les fibres ont été considérées comme circulaires et leur diamètre a été mesuré à l'aide d'un pied à coulisse avec une précision de 0,01 millimètre. L'humidité naturelle des fibres a été déterminée en séchant les fibres fraîches dans une étuve à 105 °C pendant 24 h. L'absorption d'eau (w) a été déterminée en mesurant la quantité d'eau potable imbibée par les fibres pendant 24 h [10]. La diffraction des rayons X, l'analyse thermogravimétrique couplée à la différentielle thermogravimétrique et la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) ont été réalisées sur un échantillon de fibres broyé (taille < 80µm) pour évaluer sa composition minéralogique. L'analyse thermique gravimétrique de l'échantillon a été réalisée avec une vitesse de chauffage constante de 10° C/min. L'appareillage utilisé pour la diffraction des rayons X est un diffractomètre Siemens D5000 équipé d'un monochromateur utilisant un anticathode de cobalt de K α ($\lambda = 1,789 \text{ \AA}$). La courbe thermo-gravimétrique des fibres a été obtenue avec un appareillage de type Netzsch SATA 449 F3 Jupiter et le spectre infrarouge a été réalisé avec un spectromètre Nicolet 510FT-IR fonctionnant dans la gamme 4000 - 400 cm⁻¹. Un microscope électronique à balayage JEOL 6380 BT équipé d'un détecteur d'électrons rétrodiffusé (BSE) a été utilisé pour les observations de microscopie électronique à balayage (MEB) sur les fibres et l'étude de la morphologie des fibres a été achevée l'aide d'un microscope optique vidéo Keyence VH-5911. La composition chimique des fibres a été déterminée selon la méthode Van Soest [11].

3. Résultats et discussion

3.1. Caractérisation physico-chimique, minéralogique et mécanique des fibres de Kenaf

Les propriétés physiques des fibres (diamètre, humidité naturelle, densité absolue et absorption d'eau) sont consignées dans le **tableau 1**.

Tableau 1 : Propriétés physiques des fibres de Kenaf

Propriétés	Résultats
Diamètre (mm)	0,14
Humidité naturelle : H (%)	4,56
Absorption de l'eau : W (%)	230
Densité absolue	1,05

Le diamètre (0,14mm) et la densité (1,05) de ces fibres sont du même ordre de grandeur que ceux des fibres de Kenaf de variété *Hibiscus cannabinus* du Burkina Faso. Cela montre que la variété de la plante influence très peu sur la densité absolue et le diamètre des fibres. Ces paramètres sont dans le même ordre de grandeur que ceux des fibres de sisal, coco et Lechuguilla [12, 13]. Quant aux fibres de lin, elles sont plus denses que les fibres de *Hibiscus altissima* mais moins épaisses que celles-ci [14]. Les différences de densités des fibres sont sans doute liées à la composition biochimique des différentes fibres. Le taux d'humidité (4,56%) des fibres de *Hibiscus altissima* est faible par rapport à celui de la variété *Hibiscus cannabinus* et aussi par rapport aux fibres de sisal, coco et Lechuguilla [12, 13]. Cette

valeur relativement faible du taux d'humidité des fibres pourrait améliorer leur résistance à la traction et leur durabilité dans la matrice argileuse.

L'absorption élevée (230%) de l'eau est principalement liée à la présence des hémicelluloses [15] dans les fibres de kenaf. Comparativement aux fibres de la variété *Hibiscus cannabinus*, l'absorption d'eau reste faible et ceci est bien corroboré avec le taux d'humidité. La forte valeur d'absorption d'eau pourrait créer un problème de vieillissement dans les composites avec la matière argileuse.

Le spectre infrarouge de **la figure 1** met en évidence les bandes attribuables aux liaisons des composés contenus dans la fibre. Ces bandes sont consignées dans le **tableau 2**. L'analyse du tableau met en exergue la présence de la cellulose, des hémicelluloses, des pectines et de la lignine dans nos fibres.

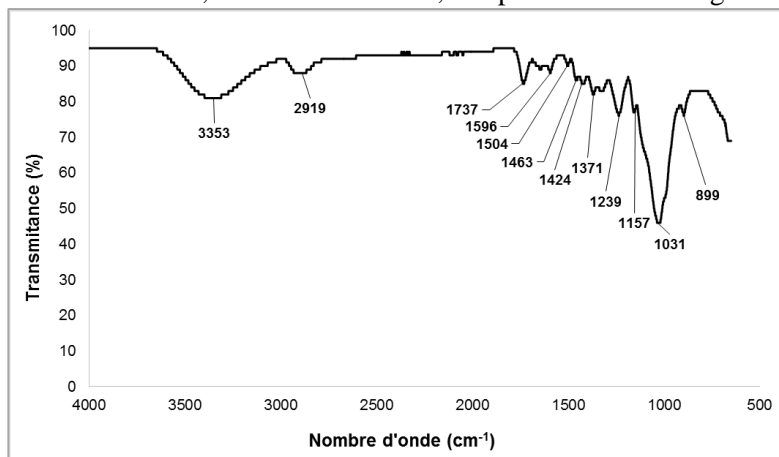


Figure 1: Spectre IR des fibres de Kenaf

Tableau 2 : Attribution des bandes.

Bande (cm ⁻¹)	Attribution	Source
3353	Liaison OH	Cellulose et lignine
2919	C-H (élongation asymétrique)	Cellulose
1630	H ₂ O absorbée	Eau
1504	C=C cycle aromatique (élongation symétrique)	Lignine
1031	Liaisons C-O et C-O-C	Cellulose
1424	Groupement C-H	Cellulose, Hémicellulose, lignine, pectines

L'analyse biochimique des fibres de Kenaf par la méthode de Van Soest a donné les résultats consignés dans le **tableau 3**.

Tableau 1 : Composition chimique des fibres de Kenaf

	Cellulose	Hémicelluloses	Lignine	Cendre
Teneur (%)	71	20	4	2

Cette composition biochimique est du même ordre de grandeur que celle de la variété de *Hibiscus cannabinus* [5]. Cela montre que la composition biochimique des fibres de Kenaf n'est pas fortement liée à la variété. Comme rapporté dans les travaux de Millogo et al. [16], les fibres de Kenaf utilisées dans notre étude ont une composition biochimique différente de celle de certaines fibres de Kenaf (Godin et al. [17], Morel et Gourc, [18]). Cette différence de composition biochimique est due à la nature du sol, du climat et de la région de culture des plantes. Après caractérisation, des éprouvettes prismatiques 4 x 4 x 16 contenant toutes 2% en masse de ciment et des proportions allant de 0,1 à 1 % de fibres de Kenaf de longueur 1,5 cm ont été élaborées. La composition des adobes issus de ces formulations est contenue dans le **tableau 4**. Ces éprouvettes d'adobes après un temps de cure d'au moins 28 jours ont fait l'objet d'une caractérisation microstructurale, physique et mécanique.

Tableau 4 : Proportions des mélanges utilisés pour l'élaboration de 100 g d'adobes amendés au ciment et aux fibres de kenaf

Adobe	Masse de ciment (g)	Masse d'argile (g)	Masse de fibres (g)	Volume d'eau (ml)
Adobe pur	0	100	0	20,0
Adobe avec 2% de ciment	2	98	0	20,4
Adobe avec 2% de ciment et 0,1% de fibres	2	97,9	0,1	20,7
Adobe avec 2% de ciment et 0,2% de fibres	2	97,8	0,2	21,0
Adobe avec 2% de ciment et 0,5% de fibres	2	97,5	0,5	21,8
Adobe avec 2% de ciment et 0,8% de fibres	2	97,2	0,8	22,7
Adobe avec 2% de ciment et 1% de fibres	2	97	1	23,3

3.2. Microstructure et minéralogie des adobes amendés au ciment et aux fibres végétales

Les spectres IR (**figure 2**) font apparaître de nouvelles bandes de vibration avec les échantillons amendés aux fibres de Kenaf entre 3000 et 2900 cm⁻¹ d'une part et autour de 1400 cm⁻¹ d'autre part. Les bandes autour de 2900 cm⁻¹ dont les intensités augmentent avec la teneur en fibres sont attribuables aux vibrations d'élongation symétrique des liaisons C-H des molécules de celluloses [19] introduites par les fibres. La large bande autour de 1400 cm⁻¹ est due à l'effet conjugué de la calcite et aux vibrations de déformation dans le plan des groupes C-H et des vibrations du noyau aromatique des pectines, lignine et des hémicelluloses. La bande attribuable autour de 3400cm⁻¹ caractéristique des vibrations des hydroxyles des CSH [9] est également détectée.

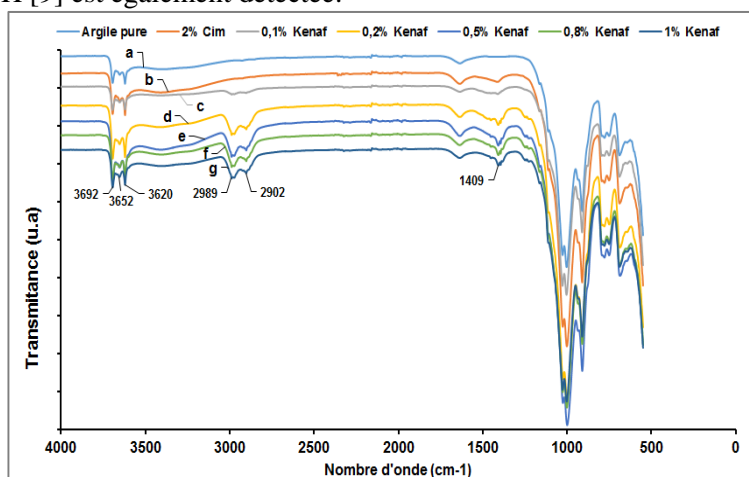


Figure 2 : IR des échantillons amendés au ciment et aux fibres de Kenaf :

a) matière première et adobes avec b) 2% de ciment et : c) 0,1% de Kenaf ; d) 0,2% Kenaf ; e) 0,5% Kenaf ; f) 0,8% Kenaf ; g) 1% Kenaf.

L'observation au vidéo-microscope des faciès de rupture de différentes formulations des adobes (**figures 3a, 3b, 3c et 3d**) montre des fissures et beaucoup de pores au niveau de l'adobe cru sans ciment ni fibres (**figure 3a**). Ceci rend la microstructure beaucoup hétérogène. L'ajout de 2% de ciment réduit aussi bien la quantité que la taille des pores (**figure 3b**) et cela conduit à une microstructure bien homogène. L'incorporation des fibres de Kenaf à faible teneur dans la matrice argileuso-cimentaire s'accompagne d'une diminution drastique des fissures et des pores se soldant par une homogénéisation de la microstructure comme l'illustre la **figure 3c**. En comparant nos adobes à ceux contenant 3 cm de fibre (**figure 3d**), on constate une augmentation de la taille des pores et des fissures dans ces adobes comparativement aux nôtres. Également, des fragments sont observés dans l'adobe du fait de

l'entassement des fibres dans la matrice argileuse dans certaines zones. Ainsi, pour des faibles teneurs en fibres, il y a une répartition assez homogène de celles-ci et une meilleure adhérence avec la matrice cimentaire et argileuse. Ceci est lié à la surface rugueuse des fibres de Kenaf. Ces surfaces se recouvrent donc du gel des CSH issus de l'hydratation du ciment [20] et des réactions pouzzolaniques impliquant le quartz fin et la silice des silicates des minéraux argileux.

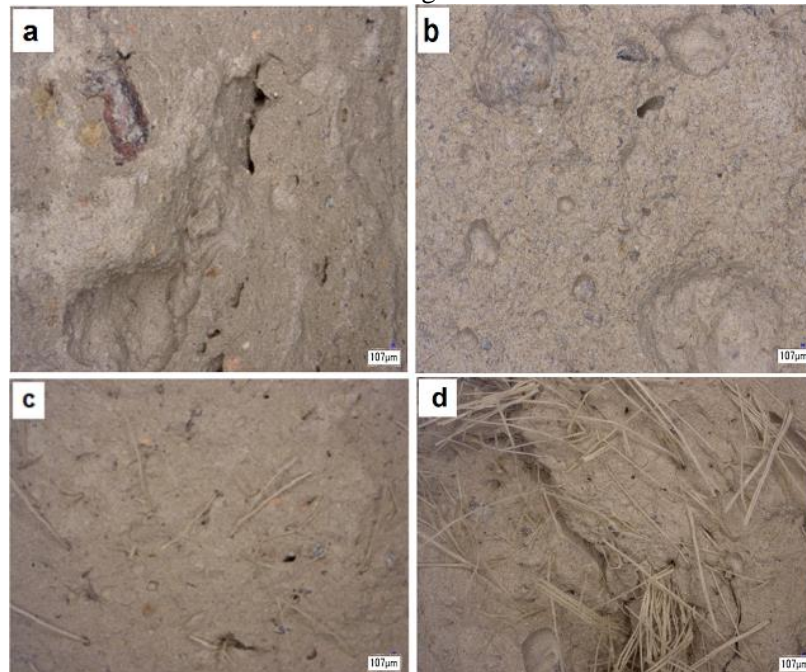


Figure 3 : Images des échantillons par vidéo microscopie :

- a) adobe pur, b) adobe avec 2% de ciment, c) adobe avec 2% de ciment et 0,2% de Kenaf 1,5 cm, d) adobe avec 2% de ciment et 1% de Kenaf 3 cm

3.3. Effet du mélange ciment - fibres de Kenaf sur les propriétés hydrique, thermique et mécanique des adobes

Les résultats d'absorption d'eau par capillarité **figure 4** et **figure 5** montrent une augmentation de la cinétique d'absorption avec l'apport des fibres de Kenaf. Ceci est dû au caractère hydrophile des fibres à cause de la présence de la cellulose et des hémicelluloses et aussi à la forte affinité du ciment pour l'eau. Cette absorption d'eau est faible par rapport aux adobes amendés avec seulement 2% de ciment du fait de la forte affinité du ciment pour l'eau. En effet la présence des fibres de Kenaf peut boucher des pores internes et par conséquent ralentit la cinétique de remontée capillaire de l'eau.

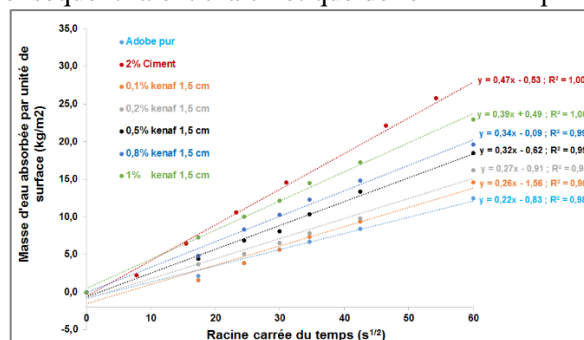


Figure 4 : Coefficient d'absorption d'eau des adobes amendés au ciment et aux fibres de Kenaf

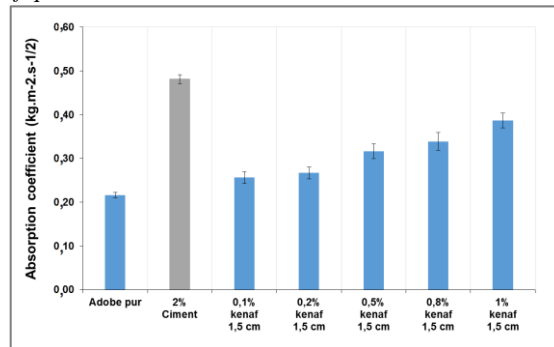


Figure 5 : Masse d'eau absorbée par unité de surface en fonction du temps

Les **figures 6 et 7** présentent respectivement l'image d'échantillons d'adobes érodés et les résultats du test d'érodabilité. L'ajout de 2% de ciment améliore fortement la résistance de la brique à l'érosion hydrique. La substitution partielle de l'argile par les fibres de Kenaf améliore aussi grandement la résistance de l'adobe face à l'érosion du fait de la formation des CSH et de la forte adhérence des fibres de Kenaf avec la matrice argileuse. Les CSH formés par l'hydratation des composantes anhydres du ciment et la réaction pouzzolanique impliquant le quartz fin et la silice des silicates de la kaolinite consolident les composites en liant les particules isolées de la terre argileuse. La microstructure de ces composites devient homogène avec une bonne liaison des particules entre elles. Par ailleurs, la formation des liaisons par pont hydrogène entre les molécules des particules argileuses et celles des fibres participe à la consolidation des composites les rendant résistants à l'érosion hydrique. Pour des fortes teneurs en fibres, le phénomène d'entassement rend l'adobe vulnérable face à l'érosion car les fibres se retrouvant abondantes dans des zones et favorisent le lessivage de l'argile.

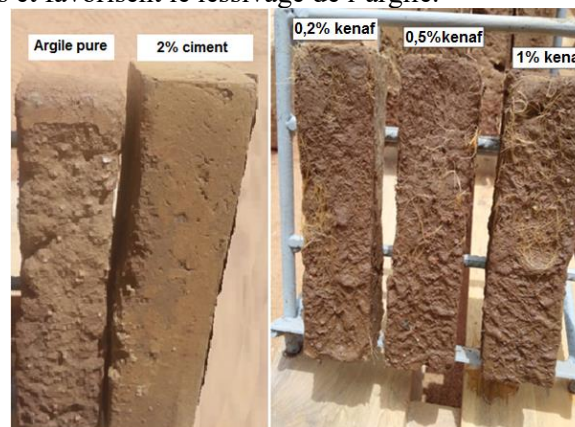


Figure 6 : Images d'adobes après érosion

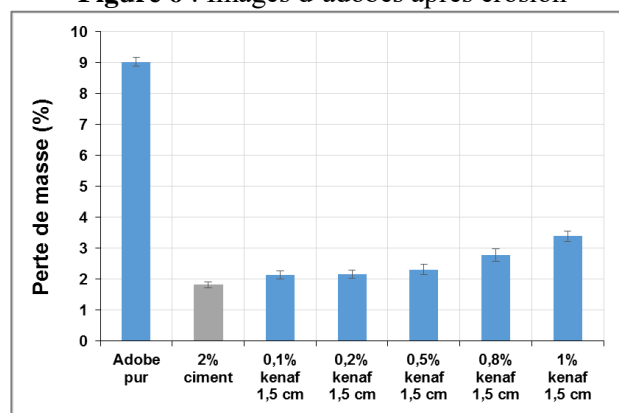


Figure 7 : Perte de masse par érosion des adobes amendés au ciment et aux fibres de Kenaf avec 1,5 cm de longueur

La conductivité thermique des adobes (**figures 8**) décroît en fonction de la teneur en fibres. La conductivité thermique est plus faible pour les adobes amendés aux fibres qu'avec les adobes naturels

ou ceux amendés au ciment uniquement. La présence de la cellulose, un bon isolant thermique, est à la base de cette décroissance de conductivité. Aussi, l'augmentation de la teneur en fibres s'accompagne d'une augmentation de la porosité et ces pores vont renfermer de l'air ; ce qui a pour conséquence la baisse de la conductivité thermique. Les adobes obtenus ont une faible conductivité thermique par rapport aux adobes naturels et aussi ceux stabilisés seulement avec 2% de ciment du fait que la conductivité thermique du béton en ciment est plus élevée que celle des fibres végétales. Etudiant l'évolution de la conductivité de briques de terre stabilisées en fonction de la densité, Zhang et al. [21] ont parvenu aussi à une diminution de la conductivité thermique à mesure que la densité baisse. Cusidó et al. [22] ont obtenu une pareille décroissance de la conductivité thermique avec des briques de terre renforcées à la pâte de papier.

L'ajout de fibres à ce binaire paraît ainsi une alternative pour fournir un confort thermique aux habitats construits avec ce type d'adobes.

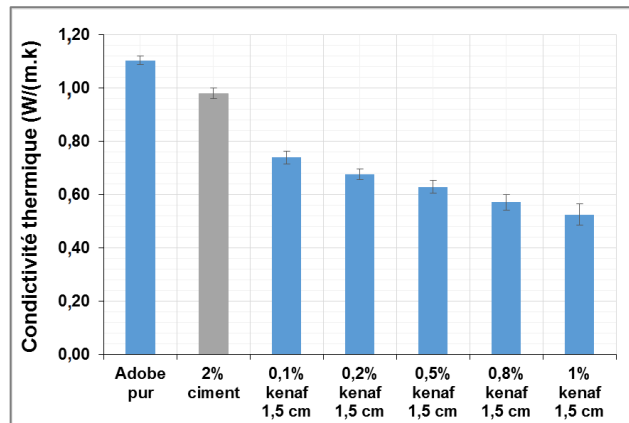


Figure 8 : Conductivité thermique des adobes amendés au ciment et aux fibres de Kenaf avec 1,5 cm de longueur

Pour apprécier le comportement des adobes à la rupture en flexion, les courbes contrainte-déplacement ont été enregistrées chez ces derniers (**figures 9**). Ces courbes présentent des ruptures fragiles pour des adobes naturels et ceux stabilisés au ciment. Avec l'incorporation des fibres de Kenaf, on constate un premier pic de rupture correspondant à la cassure de la matrice argileuse ou argilo-cimentaire accompagnée d'un autre pic de rupture dû à la présence des fibres de Kenaf qui reprennent les charges après la destruction de la matrice argileuse ou argilo-cimentaire. Ce phénomène est beaucoup accru avec des teneurs importantes en fibres (0,8 à 1%) dans des adobes se manifestant par au moins un pic de rupture après celui de la matrice argileuse ou argilo-cimentaire. Ainsi, en plus d'accroître la résistance finale à la flexion, les fibres confèrent à la bâtisse une certaine ductilité qui lui permettra de tenir un peu après des chocs importants. Ouedraogo et al. [23] et Millogo et al. [7] ont obtenus des résultats similaires respectivement sur les adobes renforcés par les fibres de Kenaf et les blocs d'adobes pressés stabilisés par des fibres de Kenaf. En outre les études d'Abdi et al. [20] et de Lijiu et al. [24] ont conduit aux mêmes conclusions.

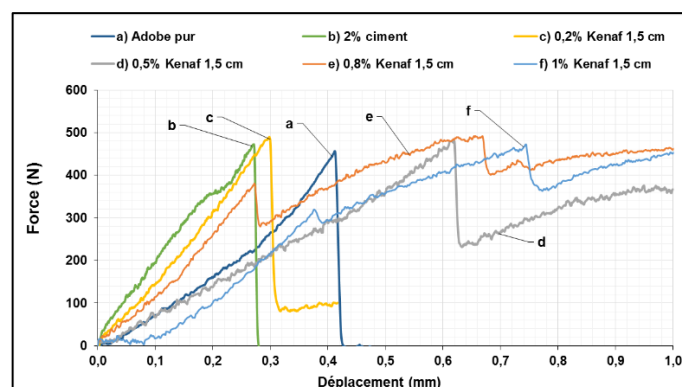


Figure 9: Courbe de contrainte-déplacement en flexion des composites d'adobes avec 1,5 cm comme longueur des fibres

Les résistances à la flexion et à la compression des adobes amendés au ciment et avec deux tailles de fibres de Kenaf (1,5 et 3 cm) sont représentées sur la **figure 10**. Les adobes amendés au ciment et contenant de faibles teneurs en fibres de Kenaf ont une meilleure résistance que les adobes naturels et ceux stabilisés avec 2% de ciment [9, 23]. La meilleure résistance aussi bien en flexion qu'en compression est obtenue avec 0,2% de fibres. L'augmentation de la résistance à la compression est due à un effet conjugué des phénomènes : une bonne adhérence des fibres de Kenaf avec la matrice argilo-cimentaire à cause de leur surface rugueuse ; une non-propagation des fissures dans les composites à cause des fibres qui pontent les fissures matricielles et la formation des CSH qui collent les particules de la terre argileuse consolidant donc les composites. Cette augmentation serait aussi due à la possibilité de formation des liaisons hydrogènes entre les molécules des fibres de Kenaf, les minéraux argileux et éventuellement les molécules de CSH (l'entité hydroxyle). Cet effet conjugué conduit à une microstructure homogène avec peu de pores comme le montre la **figure 3c**. Quant à la résistance à la flexion, son augmentation pour des faibles teneurs en fibres est essentiellement due à la présence dans la matrice des fibres de Kenaf ayant une bonne résistance à la traction à cause de leur teneur importante en cellulose cristalline. Ce résultat aussi peut s'expliquer par la formation des CSH ou des liaisons hydrogènes qui consolident les composites. Les adobes formulés ont une résistance à la compression supérieure à 2MPa ; ceci permet de les utiliser dans la construction d'habitats tenant compte des normes en vigueur relatives aux matériaux de construction [25]

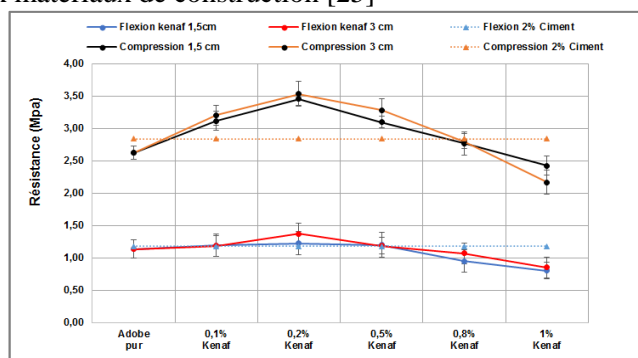


Figure 10 : Résistance à la flexion et à la compression des adobes amendés au ciment et aux fibres de Kenaf avec 1,5 et 3 cm de longueur

4. Conclusion

De l'étude microstructurale, hydrique, thermique et mécanique des adobes amendés au ciment et aux fibres de Kenaf de 1,5 cm de long, il ressort les points suivants :

- L'ajout de fibres de Kenaf à faible proportion bouche les pores des adobes élaborés rendant la microstructure du matériau composite homogène.
- La stabilisation des adobes par des fibres de Kenaf diminue l'érosion hydrique due à une bonne adhérence des fibres avec la matrice argilo-cimentaire. Par ailleurs, l'ajout de ces fibres fait augmenter l'absorption d'eau à cause du caractère hydrophile de la cellulose et de l'hémicellulose.
- L'incorporation des fibres aux adobes fait augmenter les résistances mécaniques. En flexion, en plus d'avoir une meilleure tenue mécanique comparativement à l'adobe d'argile pure ou d'argile amendée uniquement au ciment, les fibres constituent une seconde barrière qui parfois nécessite davantage de force pour rompre.
- L'ajout de fibres de Kenaf s'accompagne de diminution progressive de la conductivité des adobes due à la cellulose qui est un bon isolant thermique.
- Les adobes formulés du point de vue de la résistance mécanique, conductivité thermique et tenue à l'eau conviennent pour la construction des habitats durables avec un bon confort thermique.

Références bibliographiques

- [1] **Group Lafarge** 1st report/ratio of economic, social and environmental performance; "To build a durable world", 2001. to see p 34/60.
- [2] **E. Gordon**, "Les espoirs du biogaz". Sciences et avenir 397, 1980. 37-42.
- [3] **M. Nacro**, "Une filière douce ". le biogaz une chance pour le développement des pays du Sahel ? Agecop-liaison 4, 1978. 20-21.
- [4] **B. Lidon et M. Nacro**, "La fermentation méthanique dans la région Soudano sahélienne : une source d'énergie permanente, une contribution importante à la gestion des ressources naturelles". CIEH-IRAT, Ouagadougou 1979, 7p.

- [5] **G. Lettinga**, “Les techniques de valorisation énergétique de la biomasse par voie humide”. Cahier du Cenca, **1980**. (n° hors série) : 411.
- [6] **M. Bouasker, N. Belayachi, D. Hoxha et M. Al-Mukhtar**, “Physical Characterization of Natural Straw Fibers as Aggregates for Construction Materials Applications”. *Materials* 7, 2014, 3034-3048; doi: 10.3390/ma7043034
- [7] **Y. Millogo, J.C. Morel, J. Emmanuel Aubert et G. Khosrow**, “Experimental analysis of Pressed Adobe Blocks reinforced with Hibiscus cannabinus fibers”. *Construction and Building Materials* 52, 2014. 71-78.
- [8] **R. Alavéz-Ramirez, P. Montes-Garcia, J. Martínez-Reyes, D.C. Altamirano-Juarez et Y. Gochi-Ponce**, “The use of sugarcane bagasse ash and lime to improve the durability and mechanical properties of compacted soil blocks”. *Construction and Building Materials* 34 (2012) 296-305.
- [9] **K. Dao, M. Ouédraogo, Y. Millogo, J-E. Aubert, M. Gomina** “Thermal, hydric and mechanical behaviours of adobes stabilized with cement”. *Construction and Building Materials* 158, 2018; 84-96.
- [10] **R.D. Toledo Filho**, “Natural Fibre Reinforced Mortar Composites: Experimental, Characterization”. Ph.D. Thesis, DEC-PUC/Imperial College, London, UK, 1997, p. 472.
- [11] **P.D. Van Soest et R.H. Wine**, “The use of detergents in the analysis of fibrous feed II. A rapid method for determination of fiber and lignin”. *Journal of the Association of Official Agricultural Chemists* 50, 1967. 50–55.
- [12] **K. Ghavami, R.D.T. Filho et N.P. Barbosa**, “Behaviour of composite soil reinforced with natural fibers”. *Cement and Concrete Composites* 21, 1999. 39-48
- [13] **C. Juárez, B. Guevara et A. Durán-Herrera**, “Mechanical properties of natural fibers reinforced sustainable masonry”. *Construction and Building Materials* 24, 2010. 1536–41.
- [14] **D.R. Tolêdo Filho, K. Ghavami, G.L. England et K. Scrivener**, “Development of vegetable fibre-mortar composites of improved durability”. *Cement and Concrete Composites* 25, 2003. 185–96.
- [15] **H. Danso, D.B. Martinson, M. Ali, J.B. Williams**, “Physical, mechanical and durability properties of soil building blocks reinforced with natural fibres”. *Construction and Building Materials*, 2015; 101: p. 797-809.
- [16] **Y. Millogo, J.E. Aubert, E. Haward et J.C. Morel**, “How Properties of Kenaf fibers from Burkina Faso Contribute to the Reinforced of Earths blocks”. *Materials* 2015, 8p, ISSN 1996-1944.
- [17] **B. Godin, F. Ghysel, R. Agneessens, T. Schmit, S. Gofflot, S. Lamaudière, G. Sinnaeve, J.P. Goffart, P.A. Gerin, D. Stilmant et J. Delcarte**, “Détermination de la cellulose, des hemicelluloses, de la lignine et des cendres dans diverses cultures lignocellulosiques dédiées à la production de bioéthanol de deuxième génération”. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement* 14, 2010. 549–560.
- [18] **J.C. Morel et J.P. Gourc**, “Behavior of sand reinforced with mesh elements”. *Geosynthetics International* 4, 1997. 481–508
- [19] **M. Jonoobi, J. Harun, P.M. Tahir, A. Shakeri, S. SaifulAzry et M.D. Makejad**, “Physicochemical characterization of pulp and nanofibers from Kenaf stem”. *Materials Letters* 65, 2011. 1098–1100.
- [20] **M. R. Abdi et H. Mirzaeifar**, “Effects of Discrete Short Polypropylene Fibers on Behavior of Artificially Cemented Kaolinite”. *International Journal of Civil Engineering* 14, 2016. 253–262.
- [21] **L. Zhang, A. Gustavsen, B. P. Jelle, L. Yang, T. Gao et Y. Wang**, “Thermal conductivity of cement stabilized earth blocks”. *Construction and Building Materials* 151, 2017. 504–511

Évaluation critique et modélisation des propriétés thermochimiques du nitrate d'argent à l'aide de la méthode Calphad

Edouard Koffi Kouassi^{1*}, Wedjers Max Robin Manouan^{1,2}, David Boa², Hmida Zamali³, Dalila Hellali³

¹Université Nangui Abrogoua, UFR SFA, Laboratoire de Thermodynamique et de Physico-Chimie du Milieu, 02 BP 801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire.

² Université de Man, UFR ST, Département de Chimie, BP 20 Man, Côte d'Ivoire.

³Université de Tunis El Manar, Faculté des Sciences de Tunis, LR15ES01 Laboratoire de Matériaux, Cristallographie et Thermodynamique Appliquée, 2092, Tunis, Tunisie

*Correspondance, courriel : kkedou@yahoo.fr

Groupe Thématique (ReMOA) : Chimie des matériaux et de synthèse

Résumé : AgNO₃ est souvent associé aux nitrates d'alcalins dans de nombreux domaines industriels et technologies. Dans le domaine de stockage d'énergie par exemple, AgNO₃ peut être utilisé comme additif dans les matériaux à changement de phase (MCP).

La recherche de MCP avec d'excellentes propriétés chimiques et physiques, et un coût substantiel pourrait conduire à des mélanges avec un grand nombre de constituants.

L'étude du diagramme d'équilibre entre phases de ces systèmes multiconstitués, nécessaire pour prédire leur comportement thermique, serait longue et coûteuse si elle était basée uniquement sur l'expérience. Pour ces raisons, la méthodologie Calphad qui est capable de prédire les propriétés thermodynamiques et le diagramme d'équilibre entre phases des systèmes multiconstitués, est une méthode de choix. Cependant, le succès de cette méthode est garanti par des données thermodynamiques fiables.

Le présent travail a porté sur l'analyse critique des propriétés thermodynamiques et la modélisation des phases de AgNO₃ grâce à la méthodologie Calphad. De nouvelles données de transition ont été obtenues. Les enthalpies libres de toutes les phases de AgNO₃ ont été exprimées sous forme GHSER. Les résultats de ce travail étant satisfaisants, cette étude devra s'étendre à d'autres nitrates purs.

Mots-clés : AgNO₃; Calphad; Analyse critique; Modélisation

Critical evaluation and modeling of thermochemical properties of silver nitrate using Calphad method

Abstract: AgNO₃ is often associated with alkali nitrates in many industrial fields and technologies. For example, in the energy storage technology, AgNO₃ can be used as additive in Phase Change Materials (PCM).

The search of PCM with excellent chemical and physical properties, and substantial cost could lead to mixtures with a high number of components.

The study of the phase diagram of these multicomponent systems, necessary to predict their thermal behavior, would be time consuming and costly if it is based only on experience. For these reasons, Calphad approach, which is able to predict thermodynamic properties and phase diagram of multiconstituent systems, is the preferred method. However, the success of this method is guaranteed by the reliable thermodynamic data.

This work focused on the critical analysis of the thermodynamic properties and the modeling of the phases of AgNO₃ using the calphad methodology. New transition data have been obtained. The Gibbs energies of all phases of AgNO₃ have been expressed in GHSER form. The results of this work being satisfactory, this study should be extended to other pure nitrates.

Keywords: AgNO₃; Calphad; Critical analysis; Modeling

1. Introduction

Le stockage d'énergie thermique est un moyen clé pour améliorer l'efficacité de l'utilisation de l'énergie solaire, car il permet de résoudre le problème de l'intermittence des radiations solaires qui limite son application [1]. Parmi les différents modes de stockage d'énergie thermique, le stockage par chaleur latente utilisant des matériaux à changement de phases (MCP) est particulièrement attractif en raison de sa grande densité de stockage et de son caractère isotherme [2]. Il a été montré que les MCP ayant une température de fusion inférieure à 573 K sont d'un grand intérêt pour les applications de l'énergie solaire

dans les domaines industriels et domestiques (séchage, chauffage, refroidissement, distillation, etc.) [3]. Compte tenu de leur caractère non-volatil et non-corrosif, leur enthalpie de fusion élevée et surtout leur faible point de fusion, les nitrates d'alcalins ont été identifiés comme des candidats de choix pour l'élaboration de MCP solide-liquide dans l'intervalle de température : 373 K – 573 K.

La recherche de MCPs performants avec d'excellentes propriétés chimiques et physiques a conduit à l'étude de mélanges multiconstitués de nitrates d'alcalins avec le nitrate d'argent comme additif [4,5]. L'un des paramètres importants dans la mise en œuvre d'un MCP est sa température de fusion qui définit son domaine d'application. Ce paramètre thermo-physique est déterminé par le diagramme d'équilibre entre phases. Si la détermination expérimentale du diagramme d'équilibre entre phases d'un système binaire est relativement aisée, ce n'est pas le cas pour les systèmes d'ordre supérieur ($n \geq 3$). En effet, l'étude complète du diagramme d'équilibre entre phases d'un système multiconstitué basée uniquement sur l'expérience est presque irréalisable compte tenu des nombreuses contraintes de coût et de temps. Dans ce sens, la méthodologie Calphad [6] qui est capable de prédire les propriétés thermodynamiques et les équilibres entre phases dans les systèmes d'ordre supérieur à partir des sous-systèmes constitutifs, se présente comme une méthode de choix. Cependant, la fiabilité de cette méthode est garantie par une bonne description thermodynamique des sous-systèmes y compris les systèmes unaires.

Les données thermodynamiques relatives aux nitrates purs qui sont les constituants dans les systèmes étudiés, sont abondantes dans la littérature. Toutefois, ces données présentent parfois des divergences qu'il convient de résoudre avant de pouvoir les utiliser. Cela se fait à partir d'une analyse critique des données. Une étude de cohérence entre les diverses données (températures et enthalpies de transition) jugées fiables est ensuite réalisée à partir d'une modélisation. L'ensemble des fonctions enthalpies libres pour les différentes phases est compilé dans une base de données type SGTE (Scientific Group of Thermodata Europe) [7] qui servira aux différents calculs thermodynamiques.

Dans la poursuite du travail déjà effectué [8], la présente étude est consacrée à l'analyse critique des données thermochimiques relatives au nitrate d'argent. Les données retenues à l'issue de l'analyse critique ont permis de proposer les expressions des enthalpies libres de chacune des phases stables présentes dans AgNO_3 .

2. Méthodologie

La méthodologie Calphad (Calculation of Phase Diagram) est la méthode utilisée dans le présent travail. C'est une méthode semi-empirique née dans les années 1970 [9] qui permet de calculer les diagrammes d'équilibre entre phases et les propriétés thermodynamiques des systèmes. Elle est reconnue aujourd'hui comme un outil performant pour le développement de nouveaux matériaux dans divers domaines. En effet, elle permet de déterminer et de proposer des modèles pour décrire les différentes phases en équilibre dans un système à partir des données expérimentales et théoriques disponibles. Sa force vient du fait qu'elle soit capable de fournir des informations correctes des systèmes multiconstitués qui peuvent être très difficiles, voire impossibles à obtenir expérimentalement à partir d'une simple extrapolation des propriétés de leurs sous-systèmes relatifs. La démarche Calphad obéit à trois étapes fondamentales : la compilation et l'évaluation critique des données, le choix des modèles thermodynamiques et l'optimisation.

Ces trois étapes ont été exécutées dans le présent travail et les outils utilisés sont présentés ci-dessous.

• La compilation et l'évaluation critique des données

Les données thermochimiques du nitrate d'argent ont été compilées et critiquées afin d'aboutir aux données traduisant au mieux les phénomènes physiques étudiés. Cette critique est basée sur une analyse thermodynamique associée à une évaluation statistique des données. L'analyse thermodynamique a porté sur les caractéristiques des échantillons de sel (pureté, masse, etc.) et les méthodes expérimentales (appareils, procédures, conditions, etc.) qui sont les deux éléments majeurs affectant les mesures. Quant à l'évaluation statistique des données, elle a servi à étudier la dispersion des données et à les regrouper en sous-ensembles homogènes. Pour ce faire, l'ANOVA (Analysis Of Variance ou analyse des variances) à un facteur (niveau de confiance de 95%) associée au test post-hoc de Duncan, a été utilisée. Les différentes analyses statistiques ont été effectuées avec le logiciel IBM SPSS version 22.

• La modélisation des phases

Les enthalpies libres des phases du nitrate d'argent ont été exprimées par le modèle de type Calphad traduit par l'équation 1 :

$${}^0G_i^\varphi(T) - {}^0H_i^{SER}(298,15K) = GHSER(i) = a + bT + cT \ln T + dT^2 + eT^3 + fT^4 + gT^7 + hT^{-1} + \dots \quad (1)$$

${}^0H_i^{SER}(298,15 K)$ est l'enthalpie molaire de i dans son état de référence standard (SER) à 298,15 K ;

T est la température absolue en Kelvin ; ${}^0G_i^\varphi(T)$ est l'enthalpie libre du corps pur i dans la structure φ à la température T. Les coefficients a, b, c..., sont obtenus à partir d'une procédure d'optimisation.

La dérivée seconde de la fonction GHSER(i) (équation 1) par rapport à la température permet d'évaluer la capacité calorifique de i par l'expression de l'équation 2:

$$C_p^{i,\varphi} = -c - 2dT - 6eT^2 - 12fT^3 - 42gT^6 - 2hT^{-2} - \dots \quad (2)$$

• L'optimisation et calculs

L'optimisation qui consiste à déterminer les valeurs numériques des coefficients ajustables contenus dans les modèles grâce aux données expérimentales a été effectuée à l'aide du logiciel suédois Thermo-calc version L PC (1995). Les différents calculs ont été effectués également avec ce logiciel.

3. Résultats et discussion

3.1 Analyse critique des données

L'analyse critique de toutes les données thermochimiques de transition compilées (températures et enthalpies de transition) du nitrate d'argent a été réalisée. Seuls les détails concernant la température de transition solide-solide sont donnés dans ce travail.

À l'état solide, $AgNO_3$ présente deux formes cristallines stables. La phase basse température ($\alpha AgNO_3$) est orthorhombique. Tandis que la phase haute température ($\beta AgNO_3$) cristallise dans une structure rhomboédrique.

• Température de transition solide-solide ($T_{\alpha\beta}$)

La température de transition solide-solide a été déterminée par différents auteurs [10-19]. Dans l'analyse préliminaire, les données pour lesquelles aucune information n'est fournie sur la pureté des sels étudiés ne sont pas considérées [16, 18, 19]. La dispersion des données retenues [10-15, 17] est relativement faible. Cependant, le test post-hoc de Duncan effectué sur ces valeurs conduit à deux sous-ensembles homogènes. La valeur 428,9 K de Boa et al. [10] qui est la plus faible de toutes les données publiées, constitue à elle seule un sous-ensemble homogène. Les autres données restantes forment un même sous-ensemble homogène, bien qu'elles aient été obtenues à l'aide de différentes techniques expérimentales. La faible valeur obtenue par Boa et al. [10] est certainement due aux difficultés liées à la détermination des températures de transition des systèmes de nitrate par analyse thermique différentielle (ATD) comme mentionné dans leur article. En effet, sur les thermogrammes ATD le début du pic caractéristique n'est pas très net et présente toujours une zone de quelques degrés où la température augmente ou diminue lentement avant le plateau invariant réel [10] ; ceci ne facilite pas la détermination de la température du phénomène thermique observé. La valeur 428,9 K peut donc être rejetée. En dehors de la valeur de Boa et al. [10], toutes les autres données sont acceptables (situées à l'intérieur de l'espace défini par les traits en pointillés). Ainsi, la valeur recommandée pour la température de transition solide-solide de $AgNO_3$ proposée dans ce travail est de $(433,0 \pm 0,5) K$ (figure 1).

La même procédure d'analyse a été réalisée pour toutes les autres grandeurs de transition. Les différentes valeurs obtenues sont présentées dans le tableau 1 avec celles issues de quelques compilations de référence. On note dans l'ensemble un bon accord entre les valeurs recommandées dans ce travail et celles issues des compilations thermodynamiques.

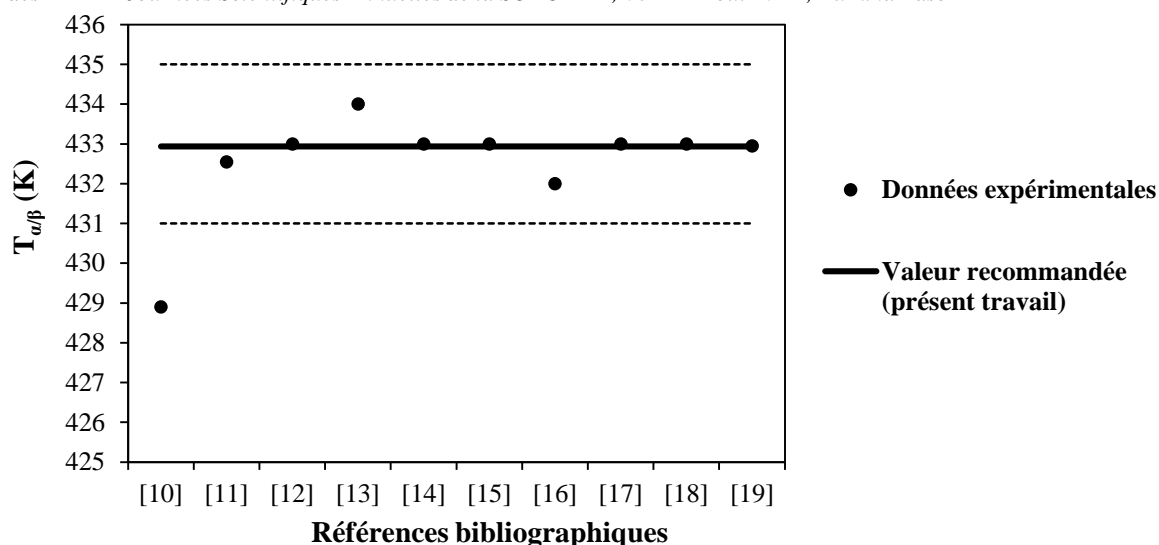


Figure 1 : Températures de transition solide-solide de AgNO_3 provenant de différentes sources comparées à la valeur recommandée (présent travail).

Tableau 1: Propriétés thermochimiques de transition de phases de AgNO_3 .

Nitrates	$T_{\alpha/\beta}$ (K)	T_{fus} (K)	$\Delta_{\alpha/\beta}H^\circ$ (J mol ⁻¹)	$\Delta_{\text{fus}}H^\circ$ (J mol ⁻¹)	Réf.
AgNO_3	433	483	2384,88	12133,6	Pankratz [20]
	433	483	5799	11715,2	Landolt-Börnstein [21]
	433	483	---	11700	Binnewies et Milke [22]
	433,0±0,5	483±1	2420 ± 62	12318 ± 166	Valeurs recommandées (Présent travail)

$T_{\alpha/\beta}$: Température de transition solide-solide; T_{fus} : Température de fusion; $\Delta_{\alpha/\beta}H^\circ$: Enthalpie de transition solide-solide; $\Delta_{\text{fus}}H^\circ$: Enthalpie de fusion.

3.2 Optimisation

A partir des données thermochimiques (C_p , $T_{\alpha/\beta}$, T_{fus} , $\Delta_{\alpha/\beta}H$, $\Delta_{\text{fus}}H$,) retenues dans ce travail, les paramètres des fonctions GHSER des différentes phases du nitrate d'argent AgNO_3 ont été déterminés à travers une procédure d'optimisation. Les paramètres thermodynamiques obtenus sont présentés dans le tableau 2. La capacité calorifique, l'enthalpie et l'enthalpie libre calculées et comparées aux données expérimentales sont présentées aux figures 2, 3 et 4. On note un accord satisfaisant entre le calcul et l'expérience. Il est bon de noter également que les températures et les enthalpies de transition obtenues après optimisation sont en excellent accord avec celles recommandées dans ce travail.

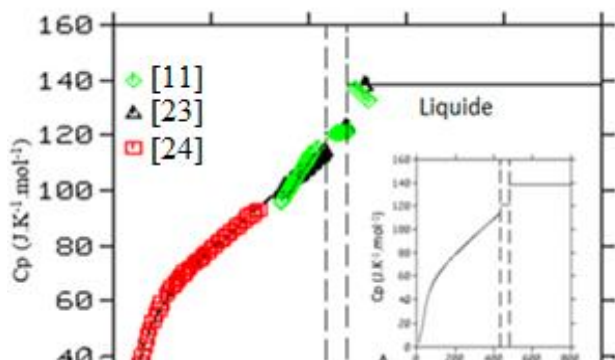


Figure 2: Capacité calorifique de AgNO_3 calculée et comparée aux données expérimentales

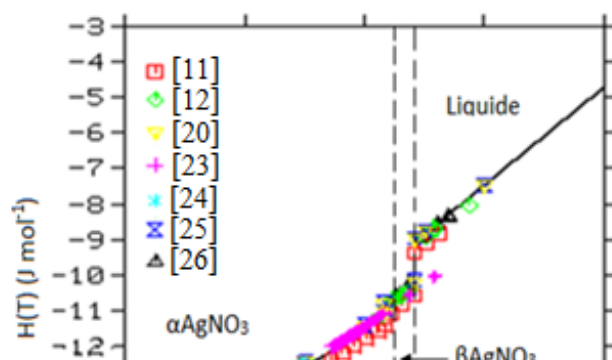


Figure 3: Enthalpie molaire de AgNO_3 calculée et comparée aux données expérimentales

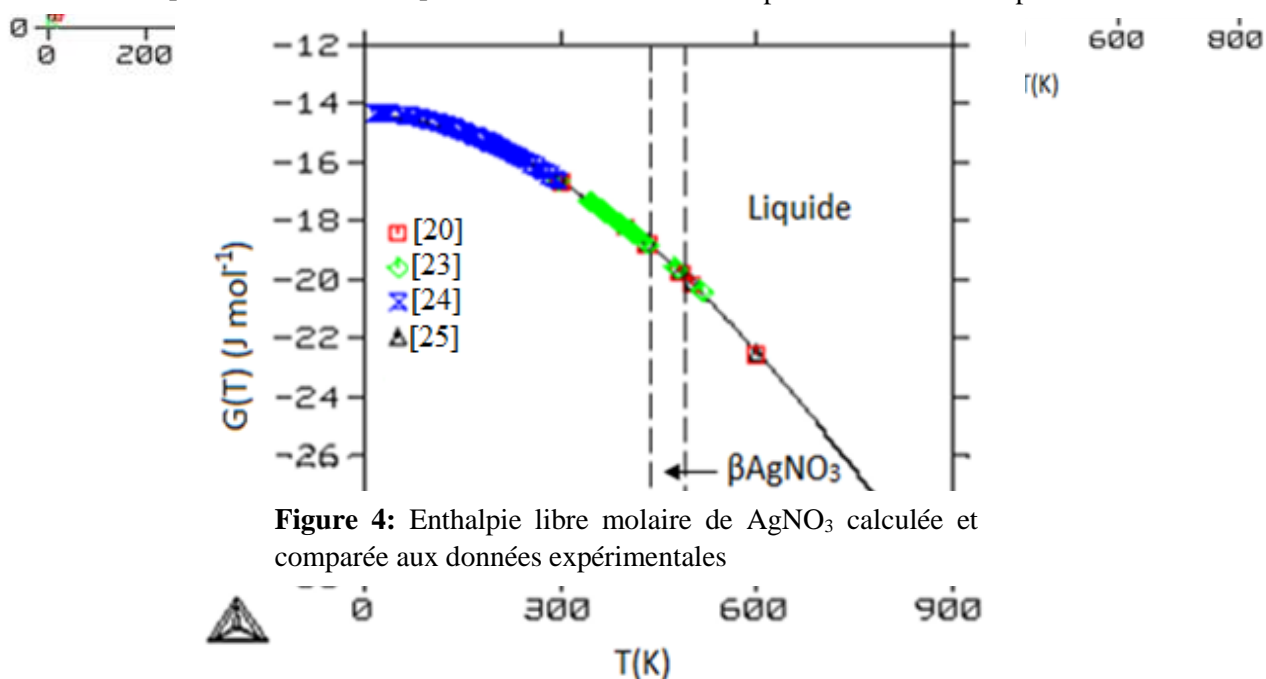


Figure 4: Enthalpie libre molaire de AgNO_3 calculée et comparée aux données expérimentales

Tableau 2 : Expressions de l'enthalpie libre ${}^0G_i^{\text{ph}}(T) - {}^0H_i^{\text{SER}}(298,15\text{K})$ du nitrate d'argent proposées dans le présent travail

Phase	Structure	T/K	Energie de Gibbs (J mol^{-1})
αAgNO_3	Orthorhombique	10-18	$-144371,031+5,0607T-0,103T^2-7,938\times 10^{-5}T^4$
		18-433	$-147809,997+251,538T-51,4T\ln(T)-7,31\times 10^2T^2 +48768,978T^{-1}-431835,916T^{-2}+^{-3}$
		433-483	$-161080,0+632,03T-114,1644408,47T\ 20T\ln(T)$
		483-3000	$-161080,5+632,03T-114,2T\ln(T)$
βAgNO_3	Rhomboédrique	10-18	$-142985+1,715T-8,74\times 10^{-2}T^2 -8,3416\times 10^{-5}T^4$
		18-433	$-146172,0+232,383T-48,0T\ln(T)-8,521\times 10^{-2}T^2 +44375,05T^{-1}-385361,373T^{-2}+1439729,22T^{-3}$
		433-483	$-161722,0+676,3903T-121,263T\ln(T)$
		483-3000	$-161725,0+676,397T-121,263T\ln(T)$
Liquide	Liquide	10-18	$-134351,0-11,98T-8,80\times 10^{-2}T^2-8,564\times 10^{-5}T^4$
		18-433	$-137170,0+194,888T-43,0T\ln(T)-0,1101T^2 +38348,163T^{-1}-325056,010T^{-2}+1186895,77T^{-3}$
		433-3000	$-157491,0+771,0659T-138,0T\ln(T)$

4. Conclusion

Le présent travail a porté sur l'évaluation critique et la modélisation des propriétés thermochimiques du nitrate d'argent grâce à la méthode Calphad. Les mots clés de cette méthodologie sont : analyse critique, modélisation et optimisation. Ainsi à partir de l'analyse critique des données combinant l'analyse thermodynamique et l'analyse statistique (ANOVA suivie de test post-hoc), une mise à jour des données thermochimiques de transition du nitrate d'argent a été effectuée. Les nouvelles valeurs recommandées dans ce travail pour la température de transition solide-solide, la température de fusion, l'enthalpie de transition solide-solide et l'enthalpie de fusion sont respectivement : $433 \pm 0,5$ K; 483 ± 1 K; 2420 ± 62 J mol⁻¹ et 12318 ± 166 J mol⁻¹.

Les valeurs recommandées ont été utilisées dans l'optimisation des différentes phases du nitrate d'argent. A partir de l'expression des enthalpies libres des différentes phases obtenue après optimisation, toutes les autres grandeurs thermodynamiques ont pu être calculées. Les données calculées ont été comparées aux valeurs expérimentales. Un accord général satisfaisant entre le calcul et l'expérience est à noter. La base de données thermodynamiques ainsi constituée est essentielle pour l'optimisation des systèmes à base du nitrate d'argent.

5. Références bibliographiques

- [1] M. Medrano, M.O. Yilmaz, M. Nogués, I. Martorell, Joan Roca, Luisa F. Cabeza, Experimental evaluation of commercial heat exchangers for use as PCM thermal storage systems, *Appl. Energy* 86 (2009) 2047-2055.
- [2] Y.B. Tao, Y.L. He, A review of phase change material and performance enhancement method for latent heat storage system, *Renew. Sustain. Energy Reviews* 93 (2018) 245-259.
- [3] J.P. Da Cunha, P. Eames, Thermal energy storage for low and medium temperature applications using phase change materials – A review, *Applied Energy* 177 (2016) 227-238.
- [4] D. Hellali, D. Boa, H. Zamali, J. Rogez, M. Jemal, Thermodynamic assessment of the ternary AgNO₃-LiNO₃-NaNO₃ system, *CALPHAD* 35 (2011) 95-102.
- [5] T. Wang, D. Mantha, R.G. Reddy, Thermal stability of the eutectic composition in LiNO₃-NaNO₃-KNO₃ ternary system used for thermal energy storage, *Solar Energy Mater.* 100 (2012) 162-168.
- [6] P.J. Spencer, A brief history of CALPHAD, *CALPHAD* 32 (2008) 1-8.
- [7] A.T. Dinsdale, SGTE data for pure elements, *CALPHAD* 15(4) (1991) 317-425.
- [8] E.K. Kouassi, M.W. Manouan, E. Zoro, D. Hellali, D. Boa, P. Benigni, H. Zamali, J. Rogez. Experimental investigation and thermodynamic evaluation of the CsNO₃ LiNO₃-NaNO₃ ternary system. *Journal of Alloys and Compounds*, (2020) 158131.
- [9] J. Sangster, Thermodynamics and phase diagrams of 32 binary common-ion systems of the group Li,Na,K,Rb,Cs/F,Cl,Br,I,OH,NO₃, *J. Phase Equil.* 21(3) (2000) 241-268.
- [10] D. Boa, D. Hellali, D. Licbarski, M. Tizzotti, H. Zamali, C. Favotto, P. Benigni, J. Rogez, Experimental investigation and calculation of the binary (AgNO₃ + KNO₃) phase diagram, *J. Chem. Thermodynamics* 81 (2015) 44-51.
- [11] V.C. Reinsborough, F.E.W. Wetmore, Specific heat of sodium nitrate and silver nitrate by medium high temperature adiabatic calorimetry, *Aust.J. Chem.* 20 (1967) 1-8.
- [12] G. Janz, F.J. Kelly. Fusion and prefusion in silver nitrate. *J. Phys. Chem.* 67(12) (1963) 2848–2850.
- [13] D. Hellali, D. Boa, H. Zamali, J. Rogez, Experimental study of phase equilibria in the (AgNO₃ + LiNO₃ + NaNO₃) ternary system, *J. Chem. Thermodyn.* 66 (2013) 102-115.

Development, validation and application of fifteen seized materials by UV spectrophotometric method for tramadol hydrochloride

Dr SALIFOU KARIMOUNE Fadjimata

Materials, water and environment laboratory (MWEL), Department of Chemistry, Abdou Moumouni University.
BP 10662, Niamey (Niger).

Corresponding Author : salifoufadjimata@gmail.com

Thematic–Groupe : GT 1 (ReMOA) Réseaux des Matériaux Ouest-Africain

Abstract: The present study describes development and validation of simple, fast, non-toxic and economic UV spectrophotometric method for the determination of Tramadol Hydrochloride. This last shows good solubility in proposed diluents and its λ_{max} was found to be 271 nm in hydrochloride acid. Distilled water, was selected like diluent and the high peak time is 20 min. The LOD and LOQ were calculated as per protocol for the validation of a method of analysis in chemistry guidelines, they are respectively be $0.177 \mu\text{g mL}^{-1}$ and $0.592 \mu\text{g mL}^{-1}$. This proposed method was found to be linear with $R^2 = 0.9996$ in the concentration range of 1-120 $\mu\text{g mL}^{-1}$. In all cases the percentage of intraday, Interday and RSD were less than 2. The ratio of similarity was found to be 5.71. According to WHO the recommended standard is between 99 and 101%.

Our study aimed to investigate the quality of fifteen seized material estimated to contain tramadol drug which nine are from Central Office for the Suppression of Illegal Traffic in Narcotics and six are from the court of justice; where drug quality control mechanism is not often checked. It can be used in case of possible Tramadol seizures or quality controls.

Keywords: Tramadol Hydrochloride, UV spectrophotometric method.

1. Introduction

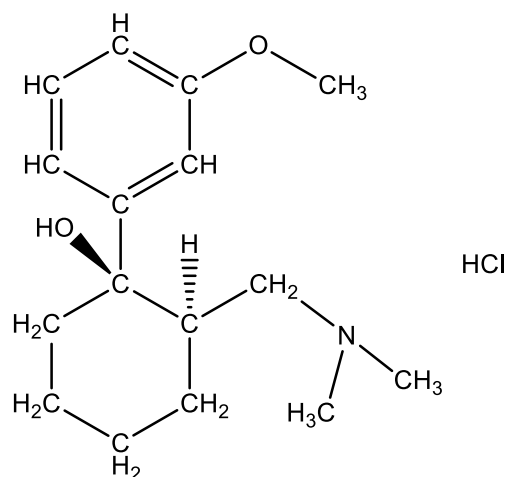


Figure 1: Chemical structure of Tramadol Hydrochloride

Tramadol hydrochloride is one of the most used drugs in Africa usually and specifically in Niger for injured person. More than 60 tons has been seized in 2016^[1]. It is a major analgesic classified in the

category of semi-legal drugs and the family of opiates. It comes in several forms (liquid, capsules and tablets) whose most seized forms are forms of tablets and capsules because it is easy to conceal them in the sale of counterfeit medicines.^[2] Its chemical formula is $\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{ClNO}_2$. It has two enantiomeric forms, which are according to UIPAC: (1R, 2R) -rel-2- (dimethylamino) methyl-; 1- (3-methoxyphenyl) cyclohexanol and (1S, 2S) -rel-2- (dimethylamino) methyl-; 1- (3-methoxyphenyl) cyclohexanol I^[3]. A review of the literature reveals that, several methods of tramadol analysis have been validated and proposed by HPLC^[4], UV spectrophotometry alone or combination of other methods have been reported for the estimation of tramadol hydrochloride^[5, 6, 7, 8, 9]. These methods are used only for the determination of tramadol hydrochloride or it may be in combination with other drugs. Among these methods, however, only a few included a single estimate of tramadol hydrochloride^[3, 10, 11, 12]. The main objective of the proposed methods was to develop simple, novel and economical UV spectrophotometric methods for determination of Tramadol hydrochloride, and to validate them in accordance with the protocol for the validation of a method of analysis in chemistry and by recovery studies (Quebec-

Canada).^[13, 14, 15]

2. Materials and methods

2.1. Experimental Chemicals, Reagents and Instrumentation

The pure sample of Tramadol Hydrochloride® (100 mg) was purchased from pharmacy, the expiry of which was not less than 2 year at the time of study. The hydrochloric Acid and Absolute Ethanol were purchased from VWR. The different instrumentations are electrical analytical balance (Precisa 205 A Certified ISO 9001); UV visible spectrophotometer (Model EVOLUTION 300 UV-VIS) connected to HP computer (Compaq LE 2001 W home edition) loaded with its printer (HP laser jet P 1102) with a fixed bandwidth (2nm) and two of 1-cm quartz cell was used for Spectral and absorbance measurements was used in these studies; a distiller (wassermangels ichtung 2001/4), used for distillation of H₂O. Used software package are: VISIONpro; Microcal Origin 6; Chem Sketch; CHNMR Viewer, 3D Viewer.

2.2. Location of λ_{\max} and solubility of the drug

At first 10 mg of Tramadol hydrochloride (Figure 1) was dissolved in 1M of Hydrochloric acid prepared from 37 % of Hydrochloric acid because this one is contained in stomach^[16]; to find the location of λ_{\max} (Figure 2) which will be selected for the following analytical wavelength. Three different diluents of which Absolute Ethanol, 0.1 M of Hydrochloric acid carefully prepared from of Hydrochloric acid 37 %, and distilled water were prepared (Figure 3). A powder equivalent of 10 mg was transferred into a 100 mL volumetric flask to have 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ of each diluents wrapped up by aluminum paper to avoid swallowing the light and dissolved as describe under analytical procedure.

2.3. Validation of proposed method

2.3.1. Linearity

From a standard stock solutions of Tramadol Hydrochloride (1000 $\mu\text{g/ml}$), pipette out aliquots of 0.1 to 12 ml of Tramadol Hydrochloride transferred to series of 100 ml volumetric flasks and final volume made up to mark with distilled water as diluent to form solutions of 1 to 120 $\mu\text{g/ml}$ of Tramadol Hydrochloride. These solutions were then scanned in the range from 200 to 400 nm against diluent as blank at λ_{\max} of Tramadol Hydrochloride and finally calibration curve was plotted as absorbance vs. concentration to check the linear relationship between absorbance and concentration of Tramadol Hydrochloride. Acceptance Criteria: Correlation Coefficient should be greater than 0.995.

2.3.2. Precision and Accuracy

Precision study expressed by carrying out Repeatability (intraday and Interday precision). They were carried out by estimating corresponding responses six times on the same day and on the three different days for the concentration for (100 $\mu\text{g/ml}$) for Tramadol Hydrochloride. The results of precision study were reported in terms of percentage relative standard deviation. Acceptance Criteria: The Relative Standard Deviation should not be more than 2%.

The accuracy of developed method was carried out by calculating the % recovery of Tramadol Hydrochloride by standard addition method at three different levels i.e. 80 %, 100 % and 120 % which are equivalent to be respectively 80, 100 and 120 $\mu\text{g mL}^{-1}$ of its standard solutions.

2.3.3. Limit of Detection and Limit of Quantification

Limit of detection (LOD) is the lowest concentration of analyte that can be detected while limit of quantitation is defined as lowest concentration of analyte that can be quantitated. With suitable precision and linearity. LOD and LOQ can be calculated from the following formulas: $\text{LOD} = 3 * \sigma$ and $\text{LOQ} = 10 * \sigma$ Where σ is the Standard deviation of the response.^[17]

2.3.4. Ratio of similarity

The Ratio of similarity allowed indicating the validity of introducing the limit of detection. It has been calculated using the following experimental procedure for the validation of analysis method in chemistry guidelines. : $R' = \frac{\bar{x}}{LOD}$ Where \bar{x} = average of ten determinations and LOD is the limit of detection. Acceptance Criteria: The Ratio of Similarity R' should be between 4 and 10.^[13]

2.3.4. Application on seized materials supposed to contain Tramadol hydrochloride (samples)

2.3.4.1. Sampling

Thirteen (13) samples for analysis were obtained from OCRTIS (the Central Office for the Suppression of Illegal Traffic in Narcotics) and the court of justice of Niger). All the thirteen drug samples are obtained with request for authorization addressed to the public prosecutor of Niamey (Niger) and a signature of discharge after receipt of the samples. Each drug sample was then labelled ($T_{i=1-15}$) and put into a plastic bag. The drugs were stored in a fridge in the laboratory (4°C). Their indicated active ingredients (a.i.) contents, weights and origins are presented in Table 1^[18].

Table 1: Tramadol hydrochloride drugs samples characteristics

Sample label	Indicated a.i content	Measured a.i	Obtained form and surname	Origin
T ₁	225 mg	498.28 mg	Tablet, AAROL-X	OCRTIS
T ₂	225 mg	615.15 mg	Tablet, Scellé 100/2018	Court of justice
T ₃	100 mg	386.41 mg	Tablet, CEAGRADOL	OCRTIS
T ₄	100 mg	390.1 mg	Tablet, Scellé 99/2017	Court of justice
T ₅	225 mg	302.19 mg	Tablet, Scellé 102/2018,	Court of justice
T ₆	200 mg	314.85 mg	Tablet, T-Royal,	OCRTIS
T ₇	200 mg	320.61 mg	Tablet, TAMRAL	OCRTIS
T ₈	200 mg	243.67 mg	capsule, TRAMADOL,	OCRTIS
T ₉	120 mg	140.66 mg	capsule, Scellé 97/2017	Court of justice
T ₁₀	120 mg	149.13 mg	capsule, TRAMADOL	OCRTIS
T ₁₁	225 mg	349.27 mg	Tablet, ROYAL,	OCRTIS
T ₁₂	225 mg	303.13 mg	Tablet, TAMRAL	OCRTIS
T ₁₃	225 mg	542.22 mg	Tablet, Scellé 103/2018	Court of justice
T ₁₄	50 mg	159.46 mg	Comprimé, ROYAL,	OCRTIS
T ₁₅	50 mg	161.33 mg	Comprimé, TAMRAL	Parquet

T : Tramadol ; a.i. : active ingredient ; mg : milligramme ; OCRTIS : Office Central de Répression de Traffic Illicite de Stupéfiants.

2.3.4.2. Determination and analysis of a.i. (active ingredient) content for specialty and samples

All a.i. (Active ingredient) of samples were estimated in seized trafficking capsules and tablets with label claim from 100 to 225 mg/capsule or tablet. The contents of each plaquettes of capsules or tablets were weighed and their contents were finely powdered. For each drug, tablets or capsules were weighed, average weight calculated and triturated to fine powder and then weight equivalent 100 mg of Tramadol hydrochloride were transferred to 100 ml of volumetric flask containing proposed diluent (distilled water); protected from light with aluminum paper to avoid degradation of their active ingredient before analysis, then sonicated 15 minutes and filtered through Whatman filter paper. Pipette 1 ml of each solution and transfer it in another 100 ml of volumetric flask in the same conditions; so the final concentration will be 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$. For each drug, three replicate determinations were done and the average of absorbance was taken for the calculating a.i. content. The sample corresponding concentration was calculated by using the calibration curve and then the average absorbance was taken

and the active ingredient of tramadol hydrochloride was calculated by using the following methods equation (A and B)^[14, 18]. $T = \left(\frac{DO \times 10000}{E_{1\%} \times C_f} \right) \times 100\%$ (Method equation A), where

T: Active ingredient content in percent

DO: Optical Density or Absorbance

E: Molar Extinction Coefficient

E_{1%} = 1 g / 100 ml = 1000 mg / 100 ml = 10 mg / ml = 10,000 µg / ml

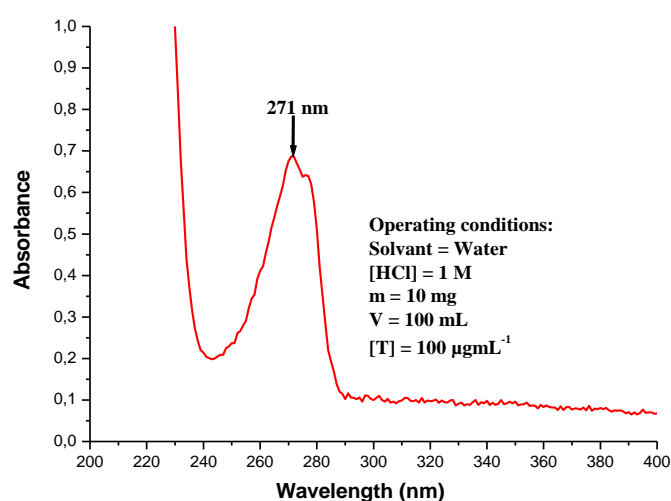
C_f: Final concentration (10^v = 10 µg / mL)

$T = \left(\frac{DO_{\text{éch}}}{DO_{\text{réf}}} \right) \times 100\%$ (Method equation B), where

DO_{éch}: Absorbance of the sample;

DO_{réf}: Absorbance of the reference.

3. Results and discussion



3.1. Location of λ_{max}

The selection of analytical wavelength, working standard solution of Tramadol Hydrochloride was scanned in the spectrum mode from 200 to 400 nm separately in 1.0 cm quartz cell against solvent blank. From the UV spectra of drug, λ_{max} of Tramadol Hydrochloride selected for the estimation of drug show **271 nm** for the analysis (Figure 2). Mustafa Sayed and al.; Rajesh Shukla and al.; Küçük, A. and Kadioğlu Y., found the same λ_{max} in their studies. [3, 8, 20]

Figure 2: Determination of the Absorption maxima of Tramadol Hydrochloride

3.2. Preliminary solubility studies of drug

10 mg of Tramadol Hydrochloride was weighed and solubility was checked in 100 mL of distilled water, ethanol, and 0.1 M HCl. The drug was found to be freely soluble in ethanol with the highest peak and practically poorly soluble in water, and 0.1 M HCl (figure 3). All diluents give good peak. The highest peak was found with the ethanol. (Figure 3). Then water was selected as diluent in this study because it is the least cost diluent and it could be ingested with water. Several studies have shown similar results like Mustafa Sayed and al., Smita and al. and Küçük, A. et Kadioğlu, Y. [3, 16, 19, 20]. Then the best time that Tramadol Hydrochloride gives the highest peak has been measured from 0 to 90 minutes. The best peak was found to be at 20 minutes. After this time all the peak fall. This change of concentration was probably the consequence of light absorption. It is illustrated by the Figure 4.

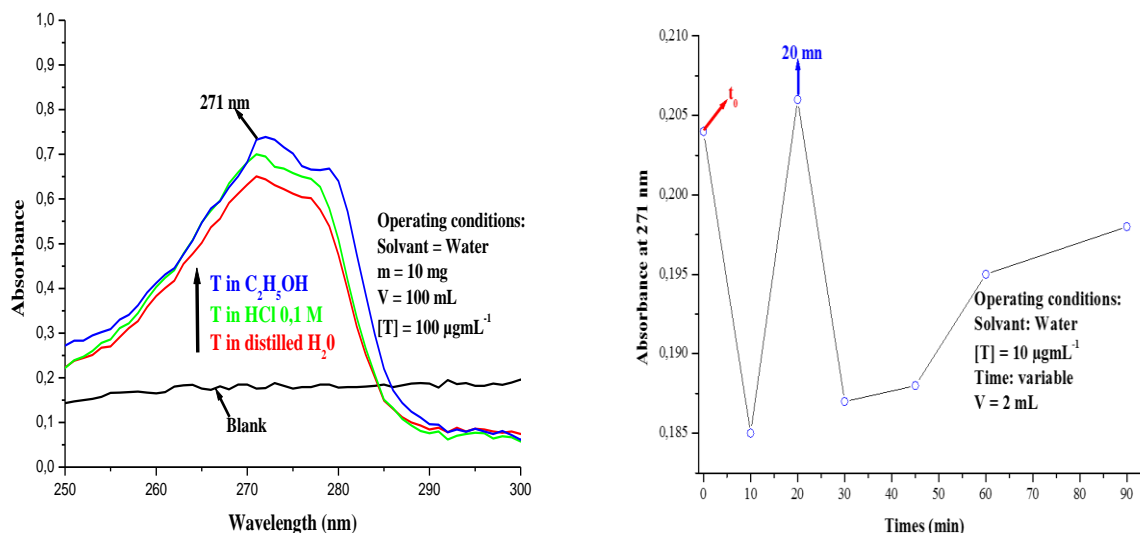
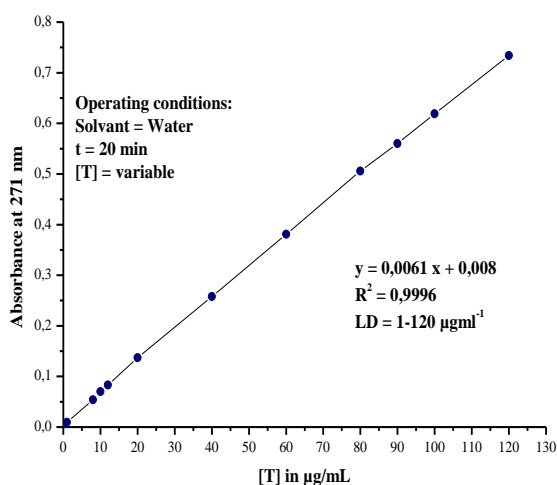


Figure 3 : Absorption Spectrum of Tramadol Hydrochloride in different diluents

Figure 4: Stability time of Tramadol Hydrochloride in distilled water

3.4. Validation

3.4.1. Preparation of calibration curve and Linearity



From above working std. stock solution of Tramadol Hydrochloride (1000µg/ml), some appropriate volumes of this solution were further diluted to obtain final concentrations in range of 1 to 120 µg mL⁻¹ (table 1). These solutions were then scanned in the range of 200-400 nm against diluent as blank and then calibration curve was plotted as absorbance vs. concentration. Then linearity was evaluated by analysis of Std. at eleven different concentrations. Tramadol Hydrochloride found to be linear within conc. range of 1-120µgmL⁻¹ with regression coefficient of 0.9996. The results show that there was an excellent correlation between peak area and concentration. (Figure 5). Many studies have

shown this relationship: Mustafa Sayed and al., Deepali Gharge and Pandurang Dhabale; Küçük, A.et Kadioğlu, Y. [3, 7, 20]

Figure 5: Calibration Curve of Tramadol hydrochloride

3.4.2. Precision

The precision of an analytical method is determined by assaying ten determinations at test concentration (10 µg mL⁻¹) [8, 21]. Percentage of Relative Standard Deviation (% RSD) calculates statistically (Table 3). It was found to be less than 2% (0,731 %) even for the intra and interdays have been calculated, that indicate the high precision of the propose method. After this the lowest concentration (1 µg mL⁻¹) has been determined by assaying ten other determinations to calculate its SD; LOD; LOQ and Similarly Ratio. This was shown in table 2.

Table 2: Precision Data of the proposed method for the lowest concentration

Sr. N°	C _s (µg mL ⁻¹)	C _R (µg mL ⁻¹)	C _R (average)	Abs.	Abs. Average	SD (µg mL ⁻¹)	Ratio	LOD (µg mL ⁻¹)	LOQ (µg mL ⁻¹)
1	1	1	1,014733	0,0095	0,00964	0,0592084	5,71	0,1776251	0,5920837
2	1	1,02105		0,0097					
3	1	1,02105		0,0097					
4	1	1,02105		0,0097					
5	1	0,91578		0,0087					
6	1	0,96842		0,0092					
7	1	0,96842		0,0092					
8	1	1,11578		0,0106					
9	1	1,11578		0,0106					
10	1	1		0,0095					

Abs.: absorbance; CR: real concentration; CS: sample concentration; LOD: limit of detection; LOQ: limit of quantification; SD: standard deviation;

3.4.4. Intraday and Interday precision

The repeatability (intra-days precision) is expressed as percentage relative standard deviations (% RSD). The average of the percentage of RSD value of intra-days precision for Tramadol Hydrochloride at the concentration of 100 µg/ml were 0.7804 and 0.5398 for inter-days precision. In all cases, the percentage RSD were less than 2. So, there is no significant variations in the analysis of Tramadol Hydrochloride at the concentrations and the proposed method was precise which are shown in Tables 5 and 6. Mustafa Sayed and al.; Jhansi Lakshmi and al. have found similar results in their studies. [3, 21].

3.4.5. Accuracy (Recovery Study)

The accuracy was assessed by the standard addition method of three replicate determinations of three different solutions containing 8, 10 and 12 µg mL⁻¹ of Tramadol Hydrochloride. The average % recoveries for three different concentrations were found to be 100,862 % using proposed UV spectrophotometric method. The higher values indicated that the proposed UV spectrophotometric method was accurate for the determination of Tramadol Hydrochloride in pharmaceutical dosage form. All the results of recovery studies are shown in Table 3. Similar results were found in several studies but they have not processed with same methodology; with regards to Mustafa Sayed and al.; K. Nagaraja Setty et al.; Deepali Gharge and Pandurang Dhabale; Smita and al.; Jhansi Lakshmi and al.; Jenny Sushmitha Evangiline D. et al.. [3, 5, 7, 19, 21, 22]

3.4.6. Limit of Detection and Limit of Quantification

The value of the limit of detection was found to be 0.177 µg mL⁻¹ and the limit of quantification was found to be 0.592 µg mL⁻¹. This indicates that the developed method was sensitive for the estimation of Tramadol Hydrochloride in bulk, capsules and tablet dosage form. The results of LOD and LOQ are shown in Table 3. These results are little higher than the results of Mustafa and al.; but six times lower than Hisham E. Abdellatef and al. results. [3, 23]

3.4.7. Ratio of similarity

The Ratio of similarity was found to be 5.71. This value means the concentration used is appropriate for the determination of results and analytical methodology. The result of The Ratio of Similarity is shown in Table 3; to date no work has been done on the compliance ratio of this molecule [13]; but Adamou Hassane HASSANE in his study has done it with another molecule [17].

Table 3: Analytical parameters of merit for the analysis of tramadol hydrochloride by UV/Visible spectrophotometer in distilled water

Parameters	Results
Absorption maximum (nm)	271
Linearity range ($\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$)	1 – 120
Correlation coefficient (r^2)	0.9996
Accuracy (% recovery)	100.8
Precision (% RSD) : Different determinations (n = 10 and $6\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$) are less than 2%	Determinations (n = 10) of $10\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$: 0,731 intra-day (n = 6) of $100\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$: 0,78048 inter-days (n = 6) of $100\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$: 0,53982
Ratio of similarity	5.71
LOD ($\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$)	0.177
LOQ ($\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$)	0.592

LOD: limit of detection; LOQ: limit of quantification; % RSD: percentage relative standard deviation.

3.5. Results of specialty and samples analysis

3.5.1. Tramadol hydrochloride specialty

Twenty capsules containing 100 mg of Tramadol Hydrochloride weighed, average weight calculated and triturated to fine powder and then weight equivalent 100 mg of Tramadol hydrochloride were transferred to 100 ml of volumetric flask containing proposed diluent, then sonicated 15 minutes and filtered through Whatman filter paper of Tramadol hydrochloride like std. stock solution. Acceptance Criteria: Mean recovery should be in the range of 99-101 % (according to the International Pharmacopeia). The results made agree with Rajesh Shukla et al. studies [8, 15].

3.5.2. Samples vs specialty analysis

Fifteen (15) tramadol drugs were analyzed in this study. Those samples drugs were obtained from the OCRTIS (60 %) and court of justice (40 %) of Niamey. Among the fifteen drugs, Among the fifteen drugs, T₁, T₃, T₆, T₇, T₈, T₁₀, T₁₁, T₁₂ and T₁₄ come from the OCRTIS and respectively T₂, T₄, T₅, T₉, T₁₃ and T₁₅ come from the court of justice. T₁, T₃, T₉ from OCRTIS and respectively T₂, T₄, T₁₀ from the court of justice have the same indicated name, manufacturer and distributor; likewise T₁₄ and T₁₅. The a.i. contents of the specialty is calculated by using method equation A. the active ingredient contents of the drugs samples were calculated by using the following method equation B. They are summarized in Table 4.

Table 4: results of the a.i. percent of the specialty and seized materials containing tramadol

Sample label	Abs.	Method B (% samples)	Pharmaceutical Product (%)	Method A (% specialty)
T ₁	0.056	80	T	100
T ₂	0.041	58.57		
T ₃	0.041	58.57		
T ₄	0.027	38.57		
T ₅	0.063	90		
T ₆	0.029	41.43		
T ₇	0.054	77.14		
T ₈	0.071	101.43		
T ₉	0.079	112.86		
T ₁₀	0.068	97.14		
T ₁₁	0.066	92.28		
T ₁₂	0.064	91.43		
T ₁₃	0.062	88.57		
T ₁₄	0.070	100		
T ₁₅	0.070	100		

T : Tramadol ; a.i. : active ingredient ; Abs. : absorbance

According to the results, all the fifteen-(15) tramadol hydrochloride drugs obtained from OCRTIS and the court of justice with irregular dosage and market have substandard concentrations when compared to the specialty claimed content (100 mg a.i). Until all the samples are fake drug; they are not conforming to manufacturing standards (99 -101 %). They contains less than 99 % or more than 101 % claimed a.i content. Among all the samples products obtained from licensed market. Comparing the results obtained, it can be seen that T₁₄ and T₁₅ have Active Principle Contents (APC) equal to that of the specialty; they are very good drugs. The sample T₈ (101.43 % of the indicated a.i) is one of the best too; it is a relatively good drug; T₉ have very high standard concentrations. All the rest have substandard, they contain less than 99 % of the indicated a.i. The presence of substandard drugs in seized materials estimated containing tramadol hydrochloride is probably due to the infiltration of the official market by substandard and fake medicaments. Comparing the results obtained T₈; the relatively good drug in the seized materials supposed to contain tramadol hydrochloride shows that, this product is probably not a counterfeit. Indeed, real licensed drugs also infiltrate the illicit market. T₅, T₁₀, T₁₁ and T₁₂ which a.i. are ≥ 90 %; is probably due to the bad conservation conditions of this drug because it is easy to hide them in counterfeiting medications. This is one of the reason of drug poor quality. The a.i. decomposition under bad conservation conditions was occasionally the cause of drugs poor quality in least developed countries. The infiltration of fake and substandard medicines in the official circuit is generally due to the absence of regular quality control mechanisms.

4. Conclusion

A fast, non-toxic, reasonably priced and simple method for the determination of Tramadol Hydrochloride in bulk, capsules and tablet dosage have been developed and validated by using the UV spectrophotometer. The results of the validation parameters show that the method is accurate, precise and sensitive. It can be used in case of possible Tramadol seizures or quality controls of this drug. This method can be used in laboratories for the quantitative analysis of Tramadol Hydrochloride in pharmaceutical formulations for quality control, where economy and time are essential to give good results. IT showed us the important presence of substandard and fake seized materials containing tramadol hydrochloride drugs in seized materials. In the thirteen samples, eleven have a substandard concentrations; one is a relatively good drug (T₈) and T₉ have a.i. >101 %. According to the seizure of these drugs and their related potential health risks, it's emergency to sensitize youngers about drugs. It is also important to make their quality control in the country because these drugs can be used in scientific research and in hospital for needy persons before incinerating them like the laws of court require.

Acknowledgements

I would like to thank The National Gendarmerie of Niamey, The University (U A M) of Niamey; The Central Office of damaging Trafficking drugs (OCRTIS) of Niger, The Law Ministry of Niamey; and The public prosecutor at a tribunal de Grande instance (TGI/HS) of Niamey.

5. References

- [1]. Office Central de Répression de Traffic Illicites des Stupéfiants du Niger, Statistiques des saisies de drogues, 2016, 2 pages.
- [2]. https://fr.wikipedia.org/wiki/Tramado_consulté_le17/11/2017_à14_h_40'_et_26/06/2018_à10_h_38'.
- [3]. Mustafa Sayed and al., Development of UV spectrophotometric methods and validation for estimation of tramadol hydrochloride in bulk and tablet dosage form by absorbance maxima and area under the curve method, 2014, 7 pages.
- [4]. Magda Ayad and al., Isocratic HPLC method for simultaneous determination of Tramadol hydrochloride and Pantorazole sodium synthetic mixture in pure forms and injection formulations, 2017, 11 pages.

- [5]. K. Nagaraja Setty and al., A simple Spectrophotometric estimation of Tramadol hydrochloride in Pharmaceutical formulations, 2012, 4 pages.
- [6]. Hisham E. Abdellatef and al., Spectrophotometric and spectrofluorimetric methods for analysis of tramadol, acebutolol and dothiepin in pharmaceutical preparations, 2006, 6 pages.
- [7]. Deepali Gharge and Pandurang Dhabale, Simultaneous estimation of tramadol hydrochloride and paracetamol by UV Spectrophotometric method from tablet formulation, 2010, 5 pages.
- [8]. Rajesh Shukla and al., Development of a UV-Spectrophotometric method for the simultaneous determination of tramadol hydrochloride and paracetamol in bulk and marketed product, 2011, 5 pages
- [9]. Hisham E. Abdellatef, Kinetic Spectrophotometric determination of tramadol hydrochloride in pharmaceutical formulation, 2002, 8 pages.
- [10]. Ch. Jhansi Lakshmi and al., Validated UV spectrophotometric method for quantitative analysis of tramadol in bulk and pharmaceutical dosage form, 2016, 5 Pages.
- [11]. Kanakapura B. Vinay and al., Sensitive spectrophotometric determination of tramadol hydrochloride in pharmaceuticals using folin-ciocalteu's reagent, 2013, 12 pages.
- [12]. E.M.P.J. Garrido and al., Development of electrochemical methods for determination of tramadol - analytical application to pharmaceutical dosage forms, 2003, 7 pages.
- [13]. Protocol for the validation of an analytical method in chemistry, 2015, 30 pages (Quebec)
- [14]. Antony C Maffat and al., CLARKE'S Analysis of Drugs and poisons, Pharmaceutical press , London-Chicago Fourth Edition, 2011, 2609 p., pp. 2175-2176.
- [15]. Pharmacopée Internationale, Volume 2, Normes de qualité, Troisième Edition, OMS Genève 1981, 3650 p., pp.3346-3348, (80/4876-Presses Centrales-2500), ISBN 924-254-151-6.
- [16]. Components of gastric juice pictures, www.google.com consulté le 15 Octobre 2018.
- [17]. Adamou Hassane HASSANE, Devenir des résidus cyanures du parc à résidus de la mine aurifère de Samira et évaluation des impacts écotoxicologiques, 2017, 191 pages ; page 87.
- [18]. Rabani Adamou and al., Quality Control of Paracetamol Drugs in West Africa: Spectrophotometric Analysis of Eight Most Available Commercial Formulations in Niger, 2011, 4 P.
- [19]. Smita and al., Development and validation of UV Spectrophotometric method for Tramadol Hydrochloride, 2015, 9 Pages.
- [20]. Küçük, A. and Kadioğlu, Y., Determination of tramadol hydrochloride in ampoule dosage forms by using UV spectrophotometric and HPLC-DAD methods in methanol and water media, 2005, *Il Farmaco*, 60(2), 163-169 Pages.
- [21]. Jhansi Lakshmi and al., Validated UV spectrophotometric method for quantitative analysis of tramadol in bulk and pharmaceutical dosage form, 5 pages.
- [22]. Jenny Sushmitha Evangiline D. and al, Method development and validation of visible spectroscopic method for the estimation of tramadol hydrochloride in pure and bulk dosage form, 2015, 5 pages
- [23]. Hisham E. Abdellatef and al.; Spectrophotometric and spectrofluorimetric methods for analysis of tramadol, acebutolol and dothiepin in pharmaceutical preparations, 2006, 6 pages.

Utilisation de la latérite dans le procédé fenton

ATSE Wilfried Aristide¹, KPINSOTON Gloria Murielle Rostandi², ESSI Marc Marie Maurice Meledge¹

¹Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière, Université Félix Houphouët Boigny, Abidjan, 22 BP 582
Abidjan 22, Côte d'Ivoire

²Laboratoire des Sciences et Techniques de l'Eau et de l'Environnement, Institut National de l'Eau, Université
d'Abomey – Calavi, Bénin

wilfriedaatse@gmail.com

Résumé

Les procédés d'oxydations avancées impliquent la génération in situ d'oxydants chimiques très puissants, les radicaux hydroxyles capables d'oxyder n'importe quelle molécule organique jusqu'à la minéralisation. L'objectif est l'élimination de l'Indigo Carmine, colorant azoïque difficilement biodégradable que l'on rencontre dans les eaux usées de teinture par oxydation Fenton en utilisant de l'argile latéritique naturellement riche en fer. Dans un premier temps nos matériaux ont été caractérisés afin d'apprécier leur structure et leur texture. Ensuite les capacités d'adsorption et les performances d'élimination en Oxydation Fenton de l'argile ont été évaluées en batch. Le suivi de l'élimination a été effectué par une spectrométrie d'absorption moléculaire à la longueur d'onde 608nm. Nos travaux ont montré un taux de dégradation de plus de 90% après deux (2H) d'agitation pour la concentration en polluant 20mg /L, un dosage de catalyseur de 3g /L, et concentration en eau oxygénée 84mg /L en 120min de réaction. Ce travail a montré l'utilité de l'argile latéritique, un catalyseur solide local, pour le traitement d'effluents riches en colorants difficilement biodégradables. Le suivi de la minéralisation du colorant et l'identification des sous-produits de dégradation en sont les perspectives proposées pour la bonne poursuite des travaux.

Mots clés : argile latéritique ; procédé Fenton ; Indigo Carmine ; adsorption

Laterite used in fenton processus

Abstract

Advanced oxidation processes involve the in situ generation of very powerful chemical oxidants, hydroxyl radicals capable of oxidizing any organic molecule to mineralization. The goal is to remove Indigo Carmine, a poorly biodegradable azo dye found in Fenton oxidation dyeing wastewater by using naturally iron-rich lateritic clay. First, our materials were characterized in order to assess their structure and texture. Then the adsorption capacities and the elimination performances in Fenton Oxidation of the clay were evaluated in batch. The monitoring of the elimination was carried out by molecular absorption spectrometry at the 608 nm wavelength. Our work showed a degradation rate of more than 90% after two (2 hours) of agitation for a pollutant concentration of 20mg/L, a catalyst dosage of 3g/L, and a concentration of hydrogen peroxide of 84mg/L in 120min of reaction. This work has shown the usefulness of lateritic clay, a local solid catalyst, for the treatment of effluents rich in dyes that are difficult to biodegrade. The follow-up of the mineralization of the dye and the identification of the by-products of degradation are the perspectives proposed for the good continuation of the work.

Key words: lateritic clay, Fenton process, Indigo Carmine, adsorption

1. Introduction

L'activité anthropique induit une charge polluante difficilement biodégradable. Cette pollution a un impact notoire sur l'environnement. Dans le cas de l'eau, la pollution liée aux colorants synthétiques prend une proportion inquiétante. L'industrie du textile est l'une des industries consommatrice d'eau. Les rejets de l'industrie du textile constituent d'énormes nuisances pour la santé humaine. De ce fait, les eaux de rejets se trouvent fortement concentrées en colorants dont la faible biodégradabilité rend les traitements biologiques difficilement applicables, ce qui constitue une source de dégradation de l'environnement. La production annuelle des colorants synthétiques mondiale est de 700 000 tonnes dont 140000 tonnes rejetés dans les effluents [1]. Leur élimination représente un des principaux problèmes dans le processus de traitement des rejets liquides. Plusieurs types sont très toxiques et difficilement biodégradables [2]. La complexité chimique et la diversité des colorants rendent les traitements dits "traditionnels" insuffisants pour être efficaces [3]. En effet, certains colorants se fixent plus ou moins efficacement sur les supports textiles malgré l'emploi d'agents fixateurs.

Actuellement, plus de 25% de la population mondiale souffrent de problèmes de santé et d'hygiène liés à la pollution de l'eau [4 ; 5]. Les rejets domestiques et industriels ainsi que les pollutions d'origine agricole ont grandement contribué à la dégradation de la qualité des eaux de surface et souterraines. Cette contamination modifie la qualité de l'eau dans l'environnement. L'industrie textile génère une pollution très importante du milieu aqueux avec des rejets fortement contaminés par des colorants. Il est estimé que 10 à 15% des quantités initiales sont perdues durant les procédures de teinture et sont évacuées sans traitement préalable des effluents [6]. Certains composés organiques possèdent un caractère cancérigène et réfractaire aux procédés de traitements habituellement mis en œuvre et sont très résistants à la biodégradation [7]. Avec la prise de conscience des risques liés à ce problème, La réglementation internationale dans le domaine de l'eau n'a pas cessé d'évoluer. Une gestion des produits chimiques toxiques avec une législation environnementale stricte est obligatoire avant de passer aux différents procédés de traitements. Ces derniers sont actuellement très maîtrisés à l'échelle du laboratoire et appliqués à grande échelle dans l'industrie incluant les méthodes physiques de transfert de masse (décantation, filtration, adsorption), ou chimique (oxydation chimique à l'ozone, au chlore), ou par voie biologique [8;9]. Les différents procédés conventionnels utilisés pour la dépollution de ces eaux usées que ce soit des procédés physique, chimique et/ou biologique (adsorption sur charbon actif, procédés membranaires, coagulation-floculation, oxydations chimiques...), sont souvent très coûteux et présentent un inconvénient majeur en transformant la pollution d'une phase aqueuse vers une nouvelle phase, par la formation de boues concentrées, créant ainsi un problème de déchets secondaires [10]. Il y a donc un besoin considérable d'une technologie capable de purifier l'eau des contaminants organiques par des procédés efficaces et peu onéreux. Durant la dernière décennie, beaucoup de recherches ont porté sur une nouvelle classe de techniques d'oxydation: les procédés d'oxydation avancée (POA). Les Procédés d'Oxydation Avancée (POA), basés sur la génération in situ des radicaux hydroxyles très oxydants, ont démontré leur efficacité dans le traitement de nombreux types d'effluents organiques en phase aqueuse. A cet égard, le principe du procédé Fenton en phase homogène consiste à initier des réactions d'oxydo-réduction du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) avec les ions ferreux (Fe^{2+}) ou ferriques (Fe^{3+}) en vue de générer des espèces radicalaires réactives (OH^\bullet , HO_2^\bullet , $O_2^{\bullet-}$). Bien qu'ayant démontré son efficacité pour la minéralisation quasi-totale d'eaux chargées en polluants, le procédé Fenton conventionnel présente l'inconvénient d'être applicable à un domaine étroit de pH. A $pH > 3-4$, le fer est susceptible de précipiter sous forme de boues d'hydroxydes, ce qui demande des coûts de traitement supplémentaires et limite l'utilisation pérenne du procédé. L'application du procédé Fenton en phase hétérogène, c'est-à-dire en présence de catalyseurs solides, apparaît donc comme une alternative intéressante permettant une régénération plus aisée du catalyseur et éventuellement de travailler à pH neutre voire basique. Ces dernières années, de nombreux oxydes, oxydes mixtes et catalyseurs supportés ont fait l'objet d'études académiques pour étendre le champ d'application du procédé, avec plus ou moins de succès [11 ; 12 ; 13 ; 14]. La latérite est l'un des catalyseurs importants et nouveaux qui est une source de fer et peut être utilisé dans le procédé Fenton [15 ; 16]. De tous les minéraux industriels, les matériaux argileux sont les plus utilisés du fait de leurs remarquables caractéristiques physico-chimiques [17]. Les propriétés des argiles ont été reconnues et utilisées depuis la plus haute antiquité [18]. Traditionnellement utilisées comme matières premières pour la céramique, les argiles sont de plus en plus employées dans plusieurs domaines pour des applications diverses [19]. Elles sont utilisées en industrie chimique où elles permettent d'amorcer certaines réactions [20 ; 21]. Certaines argiles sont utilisées pour leur grande capacité d'adsorption dans le traitement des eaux polluées et la filtration des boissons. D'autres sont également employées dans l'industrie pharmaceutique et médicale où elles servent de base pour les pansements [22]. Ces deux dernières décennies, de nombreux travaux ont été consacrés à leur utilisation comme matériaux de construction (briques de terre stabilisés ou carreaux de revêtement) [23]. Dans le domaine des composites polymères-minérales, les argiles de type montmorillonite sont d'usage courant du fait de leur aptitude à se disperser facilement dans la suspension d'amidon [24 ; 25]. Des études effectuées, de 1963 à 1969, par la Société pour le Développement Minier (SODEMI) ont montré que la Côte d'Ivoire dispose de nombreux gisements de matériaux argileux [26]. Bien que la Côte d'Ivoire en possède des quantités très importantes, cette matière première reste sous exploitées [27]. Nous voulons proposer une alternative pertinente, cette alternative est l'utilisation de matériaux catalytiques à faible coût pour le développement d'un procédé durable et efficace de traitement d'effluents industriels par Fenton Hétérogène en utilisant la latérite (les argiles). Dans un souci de développer une méthode efficace, moins onéreuse et d'application facile, nous nous sommes

intéressés aux matériaux latériques. L'efficacité de ces matériaux est justifiée par leur grande surface spécifique, la présence des charges sur la surface, leur composition qui est faite en majorité d'oxydes de fer et d'aluminium. Tous ces faits nous ont motivé à utiliser les matériaux latéritiques comme adsorbant potentiel pour le procédé Fenton hétérogène. Les latérites sont des produits d'intense altération météorique et sont constituées d'un assemblage minéral qui peut être fait de goethite, d'hématite, d'hydroxyde d'aluminium, de kaolinite et de quartz [28]. Dans le but de valoriser ces matériaux latéritiques locaux dans le domaine du traitement des eaux, la latérite provenant de Youhouill (Dabou) ville située au Sud dans la région des grands ponts en Côte d'Ivoire a été utilisée dans cette étude. Les travaux sur l'utilisation de la latérite de youhouill (Dabou) et plus précisément sur la latérite de Côte d'Ivoire en tant que catalyseur Fenton hétérogène sont presque y n'existant dans la littérature. L'objectif du présent travail est de proposer une alternative au traitement des eaux par des méthodes simples, efficaces et peu coûteuses. Pour cela, il est indispensable que ces méthodes soient basées sur les ressources naturelles du pays comme l'argile. Ainsi, avons-nous choisi d'étudier et d'optimiser l'élimination de colorants synthétiques des eaux par les réactions de Fenton. L'Indigo Carmine a été utilisé comme polluant modèle. En effet, le procédé de traitement par les réactifs de Fenton appartient au domaine de la photocatalyse en milieu homogène. Les radicaux hydroxyles sont produits par la décomposition catalytique de H₂O₂. Cette production peut s'accroître en présence d'ions ferreux ou ferriques qu'on retrouve généralement dans les argiles.

2. Matériel et méthodes

2.1. Echantillon d'argile

Cette étude a été menée sur un échantillon d'argile provenant du site de Dabou, dans la région des grands ponts, une région du sud de la Côte d'Ivoire. La Côte d'Ivoire est un pays de l'Afrique de l'Ouest qui se situe à la latitude 7°18'00,00'' Nord et la longitude 5°12'00,00'' Ouest. L'échantillon d'argile, notés DAB2 a été prélevé dans le village de Youhouill (Sous préfecture de Lopou) à l'aide d'une houe et mis dans des sacs de jutes de 50 kg sans traitement préalable. Avant la caractérisation, les échantillons prélevés ont été séchés à l'ombre pendant quelques semaines et concassés puis broyé dans un mortier en verre et enfin tamisée à l'aide d'un tamis à 100 µm.

2.2 Produits chimiques

Tous les produits chimiques utilisés dans cette étude étaient de qualité analytique et ont été utilisés sans autre purification. L'acide sulfurique (H₂SO₄), le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), l'hydroxyde de sodium pastille (1kg), ont été achetés chez Equipement Laboratoire Chimie (E.L.C), en Côte d'Ivoire. L'Indigo Carmin en Roumanie. Une solution mère de 1 g/L d'Indigo Carmine a été préparée en dissolvant le colorant dans de l'eau distillée.

2.3 Techniques expérimentales

L'analyse des échantillons à la diffraction des rayons X (DRX), a été effectuée à l'aide d'un diffractomètre multifonctions de type GBC,EMMA. Elle a permis d'étudier les phases minérales contenues dans notre échantillon argile. Le rayonnement monochromatique utilisé pour les mesures, est la raie K_α du cuivre de longueur d'onde λ=1,5402 Å. fonctionnant sous une tension de 20 kV, une intensité de 35 mA, une puissance de 1kW et une intensité pour le filament de 3,56 mA. L'identification des phases minérales a été faite par comparaison des diffractogrammes obtenus avec la base de données internationale ICDD (International Center for Diffraction Data) à l'aide du logiciel EVA (Brukers AXS). Si l'analyse chimique avait été réalisé, nous aurions du combiné les résultats de la diffraction des rayons X et de l'analyse chimique pour d'évaluer les proportions théoriques des phases minérales présentes dans notre échantillons en utilisant la relation développée par Njopwouo, (1984) et Yvon *et al.*, (1990) qui est la suivante **Eq.1** :

$$T(a) = \sum_{i=1}^n M_i \cdot P_i(a) \quad (1)$$

Avec : T(a) : teneur (%) en élément a dans le matériau ;

M_i : teneur (%) en minéral i dans le matériau ;

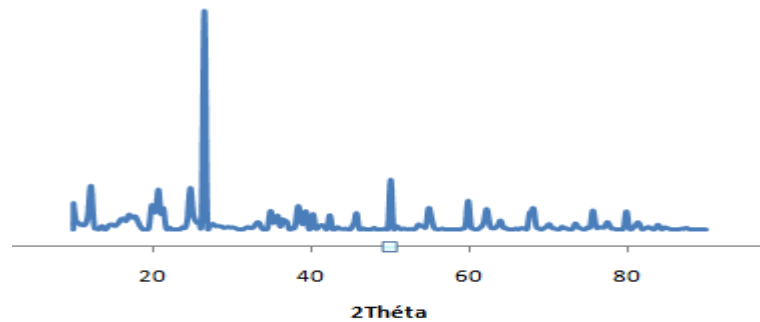
P_i(a) : proportion de l'élément a dans le minéral i.

La morphologie des échantillons a été observée à l'aide d'un Microscope Electronique à Balayage (MEB) de type HIROX SH 4000M avec un détecteur Brucker, XFlash 6/30. La surface spécifique a été déterminée par la méthode BET via l'adsorption d'azote à 77 K.

3. Résultats et discussion

3.1. Analyse minéralogique par la DRX

Le diffractogramme révèle que l'échantillon contient les minéraux suivants : la kaolinite ($12,52^{\circ}$; $36,04^{\circ}$; $55,28^{\circ}$; $60,12^{\circ}$), La Muscovite ($25,16^{\circ}$; $46,14^{\circ}$), le quartz ($26,78^{\circ}$; $39,62^{\circ}$; $65,2^{\circ}$; $68,46^{\circ}$; $76,46^{\circ}$; $80,3^{\circ}$) et la goethite ($21,06^{\circ}$; $54,4^{\circ}$).



3.2. Morphologie des échantillons étudiés

Les figures 7 présentent les morphologies respectives des échantillons DAB2

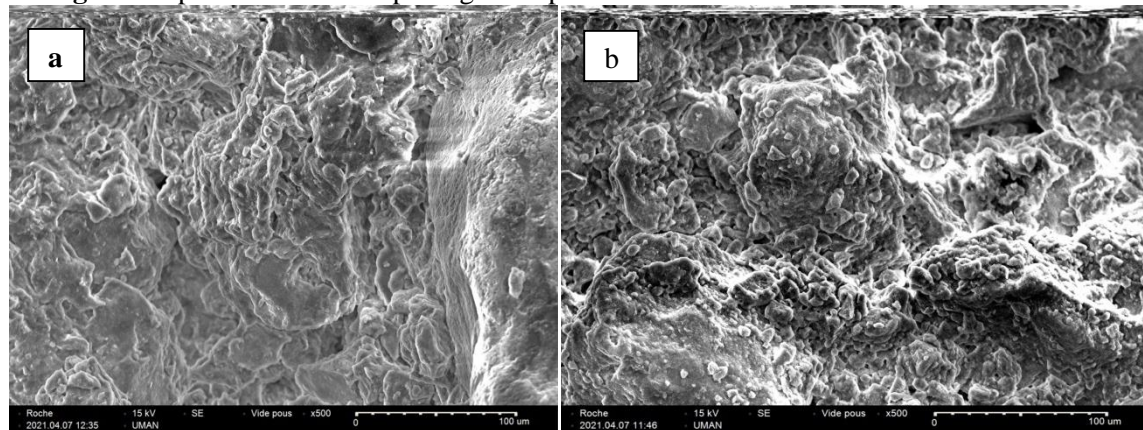


Figure 7: Morphologie de l'échantillon DAB2 a- échantillon brut ; b- échantillon broyé

La morphologie de l'échantillon DAB2-brut (**Figure 7.a**) présente des feuillets en forme de plaquettes à structure complexe. Les plaquettes sont empilées les unes sur les autres (cristaux accolés face à face) de sorte à former des amas dont l'épaisseur peut atteindre 100 µm. La morphologie des échantillons DAB2-broyé (**Figure 7.b**) présente des feuillets en forme de lamelles. Ces lamelles ont une structure hexagonale à surface irrégulière. Il semble avoir une distorsion notable de ces cristaux d'argile présentant la morphologie d'un matériau moyennement cristallisé. De plus, les cristaux d'argile sont disposés de façon désordonnée de sorte à former des agrégats. Le broyage aurait bouleversé la morphologie l'échantillon brut en détachant les amas pour en faire des agrégats constitués de cristaux distordus à surface irrégulière.

3.3. Surface spécifique

Les valeurs de surface spécifique et la masse volumique de DAB2 sont portées dans le **tableau 4**.

Tableau 4 : Surfaces spécifiques et masses volumiques de l' échantillon DAB2

Echantillon	DAB2
Surface spécifique (m ² /g)	39,16
Masse volumique apparente (g/cm ³)	2,47

La surface spécifique de l'échantillon DAB2 (~ 39,16 m²/g) est légèrement supérieure à celle généralement observée pour les kaolinites. Cette observation pourrait s'expliquer soit par sa teneur en oxyde de fer, soit par la taille de ses particules. En effet, les travaux de [29 ; 27] ont montré que la présence des oxydes de fer dans les argiles contribue fortement à l'augmentation de la surface spécifique. D'autre part, les travaux de [29 ; 23] ont aussi montré que la taille des particules argileuses pourrait être un paramètre à prendre en compte pour expliquer la surface surface spécifique importante des argiles.

3.4. Procédé Fenton hétérogène

Les expériences ont été menées à température ambiante et pression atmosphérique dans un réacteur batch en verre d'une capacité de 1000 mL équipé d'un agitateur magnétique. Dans un essai typique, 3 g/L de latérite a été ajouté dans 1000 mL d'une solution aqueuse d'Indigo Carmine avec une concentration de 20 mg/L. Dans toutes les expériences, la valeur du pH a été ajustée avec H₂SO₄ à 3. Plusieurs études ont montré que le pH optimal pour la réaction de Fenton est proche de la valeur de 3. Le suivi de l'élimination a été effectué par un spectrophomètre UV- VIS, DR3900 à la longueur d'onde $\lambda_{\max} = 608\text{nm}$. Nos travaux ont montré un taux de dégradation de plus de 90% après deux (2H) d'agitation pour une concentration en polluant de 20mg /L, un dosage de catalyseur de 3g /L, et une concentration en eau oxygénée 84mg /L.

4. Conclusion

Dans le présent travail, la latérite de Dabou a fait l'objet de plusieurs caractérisations comme la DRX, MEB et la surface spécifique. Ces caractérisations ont été réalisées pour identifier les différentes propriétés de la latérite de Dabou. L'objectif de cette étude était la valorisation de la latérite de Dabou en vue de l'utiliser dans le procédé fenton hétérogène. Ce travail a montré l'utilité de l'argile latéritique, un catalyseur solide local, pour le traitement d'effluents riches en colorants difficilement biodégradables. Le suivi de la minéralisation du colorant et l'identification des sous-produits de dégradation ainsi que certaines autres caractérisations en sont les perspectives proposées pour la bonne poursuite des travaux.

5. Bibliographie

- [1] Messina P. V., Schulz P.C., Adsorption of reactive dyes on titania-silica mesoporous materials, *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 299, no. 1, pp. (2006), 305–320.
- [2] Damodar R.A., Jagannathan K., Swaminathan T., Decolourization of reactive dyes by thin film immobilized surface photoreactor using solar. *Sol. Energy* 81 (2007) 1-7.
- [3] Van Der Zee F.P., Lettinga G., Filed J.A., Azo dye decolorization by anaerobic granular sludge. *Chemosphere* 44, (2001), 1169-1176
- [4] M. Pera-Titus, V. García-Molina, M. A. Baños, J. Giménez, S. Esplugas, Degradation of chlorophenols by means of advanced oxidation processes: a general review, *Appl. Catal. B Environ.*, 47; 2004:219-256.
- [5] G. Mezohegyi, F. Gonçalves, J. J. M. Órfão, A. Fabregat, A. Fortuny, J. Font, C. Bengoa, et F. Stuber, Tailored activated carbons as catalysts in biodecolourisation of textile azo dyes, *Appl. Catal. B Environ.*, 94; 2010: 179-185.

- [6] H.Ghodbane, O. Hamdaoui, Intensification of sonochemical decolorization of anthraquinonic dye Acid Blue 25 using carbon tetrachloride, *Ultrason. Sonochem.*, 16; 2009: 455- 461
- [7] J. Sun, S. Sun, J. Sun, R. Sun, L. Qiao, H. Guo, M. Fan, Degradation of azo dye Acid black1 using low concentration iron of Fenton process facilitated by ultrasonic irradiation, *Ultrason. Sonochem.*, 14; 2007: 761-766
- [8] C. Li, M. Numata, M. Takeuchi, S. Shinkai, A sensitive colorimetric and fluorescent probe based on a polythiophene derivative for the detection of ATP, *Angew. Chem.*, 117; 2005: 6529-6532.
- [9] G. L. Northcott, K. C. Jones, Validation of procedures to quantify nonextractable polycyclic aromatic hydrocarbon residues in soil, *J. Environ. Qual.*, 32; 2003: 571-582.
- [10] R. Androzzzi, V. Caprio, A. Insola, R. Marotta, Advanced oxidation processes (AOP) for water purification and recovery, *Catalysis today*, 53 (1999) 51-59.
- [11] S. Navalon, M. Alvaro, H. Garcia, Heterogeneous Fenton catalysts based on clays, silicas and zeolites, *Applied Catalysis B: Environmental*, 99 (2010) 1–26.
- [12] E.G. Garrido-Ramírez, B.K.G Theng, M.L. Mora, Clays and oxide minerals as catalysts and nanocatalysts in Fenton-like reactions - A review, *Applied Clay Science*, 47 (2010) 182–192.
- [13] Ai Ni Soon, B.H. Hameed, Heterogeneous catalytic treatment of synthetic dyes in aqueous media using Fenton and photo-assisted Fenton process, *Desalination*, 269 (2011) 1–16.
- [14] A.D. Bokare, W. Choi, Review of iron-free Fenton-like systems for activating H₂O₂ in advanced oxidation processes, *Journal of Hazardous Materials*, 275 (2014) 121–135.
- [15] Karale R, Manu B, Shrihari S. catalytic use of laterite iron for degradation of 2-aminopyridine using advanced oxidation processes. *Int J Sci Eng Res* 2013 ; 4 : 207-10.
- [16] Manu B, Mahamood S, Vittal H, Shrihari S. A novel catalytic route to degrade paracetamol by Fenton process. *Int J Res Chem Environ* 2011: 1: 157-64.
- [17] Andji J. Y. Y., (2006): Caractérisation, typologie et propriétés d'usage des argiles du site de gounioubé. Thèse de doctorat de l'Université de Cocody-Abidjan, Côte d'Ivoire.
- [18] Traore K., (2003) : Frittage à basse température d'une argile kaolinitique du Burkina Faso. Transformations thermiques et réorganisations structurales. Thèse de doctorat des Universités de Limoges et de Ouagadougou
- [19] Murray H. H., (2000):Traditional and new applications for kaolin, smectite and palygorskite: a general overview. *Applied Clay Science*,17: 207- 221
- [20] Boudali L.K., Amri H., Figueras F., (2001): Propriétés catalytiques de la montmorillonite intercalée au titane dans l'oxydation de l'alcool allylique (E)-hex-2-én-1-ol. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Series IIC. Chemistry*, 4:67–72.
- [21] Mnasri S., Frini-Srasra N., Srasra E., (2012): Étude de l'activité catalytique des argiles pontées aluminium, zirconium et cérium dans la synthèse du 2,2-diméthyl-1,3-dioxolane. *Comptes Rendus Chimie*,15(5): 437–443.
- [22] Kouakou L.P.M.S., Andji Y. Y.J., Coulibaly-Kalpy J., Coulibaly K. E., (2014): Argiles utilisées dans la curation de diverses affections en Côte d'Ivoire : Etude de l'effet antibactérien. *Rev. Ivoir. Sci. Technol*, 24: 84–92.
- [23] Konan K. L., (2006): Interactions entre des matériaux argileux et un milieu basique riche en calcium. Thèse de Doctorat de l'Université de Limoges, France.
- [24] Bordes P., PolletE., AvérousL.,(2009):Nano-biocomposites: Biodegradable polyester/nanoclay systems. *Progress in Polymer Science*,34(2): 125–155.
- [25] Chivrac F., Pollet E., Schmutz M., Avérous L., (2010a): Starch nano-biocomposites based on needle-like sepiolite clays. *Carbohydrate Polymers*,80(1): 145-153.
- [26] EMERUWA E., « Les matières premières à usage céramique de Côte d'Ivoire ». Rapport de SODEMI, Abidjan, N°634 (1993) 16 t d'argiles. Thèse de Doctorat de l'Université de Strasbourg, France
- [27] Soro N.S., (2003) Influence des ions fer sur les transformations thermiques de la kaolinite. Thèse de Doctorat de l'Université de Limoges, France

Utilisation d'un matériel végétal dans le traitement des eaux usées domestiques de la décharge d'Akouedo

ADOU Koffi Wilson¹, SAGOU Sagou Jean-Pierre^{1*}, BOLOU BI Bolou Emile²

¹Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière, UFR SSMT, 22 BP 582 Abidjan 22, Université Félix HOUPHOUET-BOIGNY, Côte d'Ivoire

²Laboratoire des Sciences du Sol, de l'Eau et des Géomatériaux, UFR STRM, 22 BP 582 Abidjan 22, Université Félix HOUPHOUET-BOIGNY, Côte d'Ivoire

*jsagou@yahoo.fr

Résumé

La phytoremédiation, en tant que technique de dépollution des milieux par des plantes, a été testée aux eaux de lessivage de la décharge municipale d'Akouedo en vue de les dépolluer des Eléments Trace Métalliques (ETM). L'étude expérimentale a été conduite en conditions contrôlées avec une plante tropicale : le *Phragmites karka*, cultivée sur une succession de couches d'argile et de sable et un milieu témoin sans plante. Les échantillons d'eau de lessivage ont été placés en amont des deux milieux, puis passés à travers ceux-ci avant d'être recueillis en aval pour être analysés par spectroscopie d'absorption atomique. Les résultats montrent que les eaux épurées par le matériel végétal présentent une acidification élevée et une réduction relativement importante des ETM comparées aux solutions initiales des eaux de lessivage et aux eaux recueillies en aval du milieu témoin. Ces résultats mettent clairement en exergue un effet plante dû au double processus d'adsorption et d'absorption des ETM au niveau des racines du *Phragmites Karka*. L'optimisation de ce processus nécessite de comprendre à l'échelle moléculaire les interactions entre les ligands racinaires du *Phragmites Karka* et les ETM afin de rendre plus efficient les mécanismes qui les gouvernent aux interfaces.

Mots clés : Phytoremédiation ; Eléments Trace Métalliques ; *Phragmites karka*.

Use of plant material in the treatment of domestic wastewater from the Akouedo landfill

Abstract

Phytoremediation, a method for depolluting environments using plants, is applied to leaching water from a municipal landfill in order to remove Trace Metals (TM). The experience is carried out under controlled conditions by using *Phragmites karka*, a tropical plant that is grown on several layers of clay and sand and the same environment without plant. The investigation consisted to go by the leaching water into both of these environments at the end of which the physico-chemical features of the purified water are analyzed by atomic absorption spectroscopy. The results exhibit a higher acidification of the leachates in the situation of the planted tubs when compared with the witness tubs. It appears also a significant reduction of TM in the planted tubs. All this goes to suggest a plant effect due to the double process of adsorption and absorption of TM occurring around the roots of *Phragmites Karka*. The optimization of this process requires understanding, at the molecular scale, the interactions occurring between the root ligands of *Phragmites karka* and the TM in order to make more efficient the mechanisms that govern them at the interfaces.

Key words: Phytoremediation, Trace elements, *Phragmites karka*.

1. Introduction

En Côte d'Ivoire, le problème d'accès à l'eau potable se pose avec acuité. Dans le District Autonome d'Abidjan, il est constaté une pénurie récurrente d'eau potable dans certaines zones puisque seulement 69% des ménages ont accès à cette ressource [1]. Cette situation est consécutive entre autres à un accès difficile aux nappes phréatiques (installations et constructions anarchiques d'habitations) et à une expansion des communes (aménagement de nouvelles zones d'habitations, migration démographie galopante). Il devient donc nécessaire de se tourner vers de nouvelles sources d'approvisionnement en eau de boisson pour combler ce déficit. A cette fin, la lagune Aghien se présente comme une alternative pouvant approvisionner les ménages en eau potable. Cependant, l'urbanisation galopante de la ville d'Abidjan fait que les alentours de ce plan d'eau sont occupés par des habitations anarchiques. De plus, les activités humaines commencent à impacter la qualité de cette eau à travers des apports d'effluents. Ces effluents d'origine principalement domestique ruissellent des eaux pluviales ayant drainé les sols urbains. Ils pourraient ainsi contenir de nombreux métaux toxiques comme le plomb, le zinc, le cadmium, etc., mais également des polluants organiques dangereux pour notre santé et l'environnement aquatique. De ce fait, la lagune d'Aghien pourrait être un vecteur de risques sanitaires si elle est polluée notamment en métaux lourds et polluants organiques. Pour prévenir de tels risques de contamination, il

convient de mener diverses actions afin de protéger les milieux lacustres d'Aghien. L'une des pistes de réflexion est la création de zones tampons par lesquelles passeraient les eaux domestiques usées ou les eaux pluviales avant d'atteindre la lagune. Ces zones intégreraient du matériel végétal à forte capacité d'assimilation de métaux ou de dégradation de polluants organiques. C'est dans ce contexte que la présente étude a été conduite. Une plante hyperaccumulatrice locale a été utilisée suivant la technique de phytoremédiation pour traiter des eaux usées prélevées en aval de la décharge d'ordures d'Akouédo, potentiellement contaminées en éléments trace métalliques (ETM).

2. Matériel et méthodes

2.1- Matériel

2.1.a- Eaux usées

Pour cette étude, les échantillonnages d'eaux usées ont été réalisés sur les lixiviats provenant de la décharge d'Akouédo. Le débit du ruissellement du lixiviat a été déterminé afin d'évaluer le flux d'ETM transféré à la lagune. Les stations de prélèvement se trouvent en aval de cette décharge et en amont de la lagune Ebrié, à proximité de M'badon, un village se trouvant dans la commune de Cocody, elle-même située au Nord-Est de la ville d'Abidjan. A ce stade, cette matrice représente déjà une source potentielle de pollution pouvant contenir une variété de polluants métalliques comme l'ont montré des études précédentes effectuées sur des lixiviats de cette même zone [2,3]. Dans notre étude, les prélèvements des eaux ont été effectués à environ 20 cm de la surface des effluents.

2.1.b- Matériel végétal

Le matériel végétal est le *Phragmites Karka*, une plante hyperaccumulatrice de métaux qui fait partie des espèces de roseaux asiatiques de la Famille des *Poaceae*. C'est un végétal qui pousse dans les savanes d'Afrique et est relativement disponible en Côte d'Ivoire. Il est de la sous-classe des *Comelinidae*, de l'ordre des *Cyperales* et de la famille des *Poaceae*.

2.1.c- Substrats de culture

L'expérimentation a été réalisée ex-situ par rhizofiltration dans un dispositif expérimental placé sous une serre. Dans ce dispositif, le système de filtration a été confectionné dans des bacs en polypropylène dans lesquels ont été disposés quatre types de substrats prélevés à la carrière d'Ahoué sur la route menant à la ville d'Alepé. Ces substrats préalablement traités et disposés avant la mise en culture des plantes sont constitués de galets, d'argile, de sable fin et de graviers fins.

2.1.d- Matériel de laboratoire

Le matériel d'analyse utilisé dans le cadre de cette étude est principalement constitué d'un multiparamètre portable de marque Bante 900p Water quality Meter pour les mesures du potentiel Hydrogène (pH) et du potentiel Redox (Eh) et d'un spectroscope d'absorption atomique de flamme de marque **Argilent Technologies** pour la quantification des teneurs en ETM.

2.2- Méthodes

2.2.a- Bouturage des plantes

Pour réaliser la culture du matériel végétal, les boutures de plantes ont été prélevées au niveau du plan racinaire puis disposées dans des bouteilles en polypropylène soigneusement lavées et contenant de l'eau. Trois semaines après le bouturage, les plantules ont été transplantés dans les systèmes de filtration contenus dans des bacs. Après trois mois de culture, le dispositif de filtration a été rempli à saturation avec le lixiviat prélevé à la décharge avec une période d'adaptation durant laquelle le bac est échantillonné au robinet après un jour. Un second échantillonnage est réalisé trois jours après le remplissage. Le dispositif est de nouveau rempli à saturation et les prélèvements des solutions effectués à une fréquence de 7 jours. L'apport de l'eau usée est continu pour maintenir les substrats en permanence à saturation.

2.2.b- Détermination de la teneur en ETM des échantillons

Les échantillons d'eau dépolluée ont été d'abord collectés dans des flacons en polypropylène, ensuite filtrés à l'aide d'un système de filtration manuel à 0,45 µm et enfin conservés au congélateur. Plus tard,

les teneurs en Chrome (Cr), Zinc (Zn), Plomb (Pb) et Nickel (Ni) de ces échantillons collectés ont été déterminées.

3. Résultats et discussion

3.1- Flux annuel des ETM dans la lagune

Les teneurs en ETM et les débits de ruissellement du lixiviat prélevé in-situ sont consignés dans le Tableau I. Les débits varient de 0,01 l/s à 1,32 l/s. Ceux déterminés pour les jours pluvieux sont de 1 à 2 ordres de grandeur plus élevés que ceux obtenus pour les jours secs. Par contre, le pH du lixiviat est plus alcalin en période sèche et tend à baisser légèrement lorsqu'il pleut. La courbe présentée à la figure 1 montre une corrélation avérée ($r^2 = 0,938$) entre le débit et le pH, ce qui indique que la dilution entraîne une acidification du lixiviat. Le caractère basique du pH du lixiviat est comparable à celui obtenu par Kouadio [4] autour de la même décharge. Cette alcalinité pourrait être liée à la faible concentration de composés organiques volatiles. En effet, lors de la fermentation acide, première phase de la décomposition anaérobie des déchets, les jeunes percolats sont riches en composés organiques volatiles. Au cours de cette phase, la valeur du pH enregistrée est généralement inférieure à 4 selon Tchobanoglous *et al.* [5]. Au fur et à mesure du vieillissement de la décharge, le lixiviat s'appauvrit en composés organiques volatiles. Cette situation entraîne alors une montée du pH à 7 ou plus d'après Kjeldsen *et al.* [6]

Tableau I : pH, Eh, débit et teneurs en ETM des lixiviats (nd* = non disponible)

Dates	pH	Eh	Débit	Cr	Zn	Pb	Ni
			l.s ⁻¹				
Jour pluvieux 1	7,35	5,1	0,33	0,03	0,04	0,07	0,09
Jour pluvieux 15	7,30	9,4	1,32	0,06	0,06	0,05	0,02
Jour sec 1	7,82	nd*	0,03	0,06	0,06	0,03	0,06
Jour sec 15	8,17	nd*	0,01	0,04	0,015	0,06	0,08
Normes OMS	nd*	nd*	nd*	0,002	3	0,02	0,01

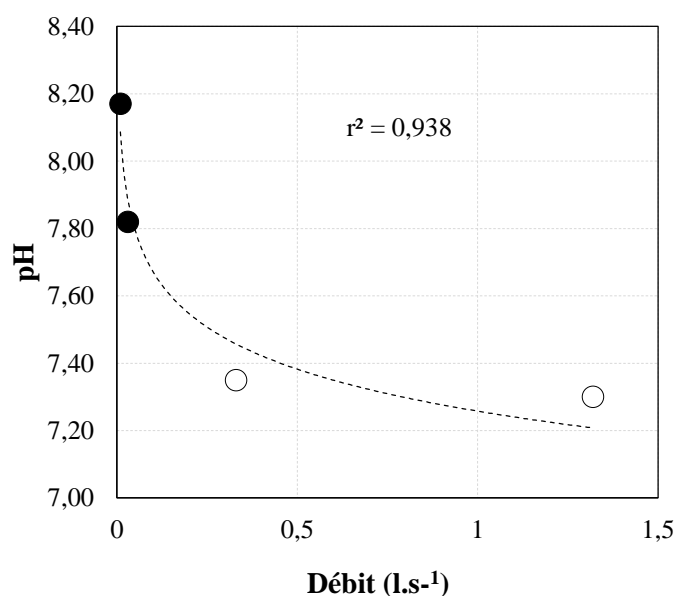


Figure 1 : Variation du pH en fonction du débit du lixiviat aux jours secs (●) et jours pluvieux (○)

Les teneurs en ETM du lixiviat (Tableau I) sont sensiblement similaires quel que soit la période de prélèvement, avec des valeurs moyennes de $0,05 \pm 0,02$ mg.l⁻¹, $0,04 \pm 0,02$ mg.l⁻¹, $0,05 \pm 0,02$ mg.l⁻¹ et

0,06±0,03 mg.l⁻¹ respectivement en éléments Cr, Zn, Pb et Ni. Le débit ne peut de ce fait pas être corrélé aux teneurs en ETM du lixiviat. Le flux en ETM drainés pendant les périodes de collecte du lixiviat a, en revanche, été calculé et présenté à la figure 2.

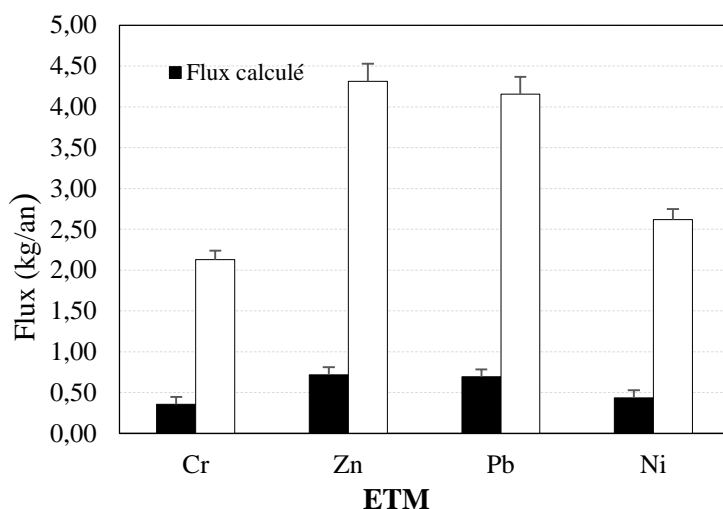


Figure 2 : Flux calculé et flux annuel des ETM allant dans la lagune

Sur la période d'échantillonnage, Les flux calculés montrent que le lixiviat a exporté environ 0,70 kg de Zn et de Pb et en moyenne 0,40 kg de Cr et de Ni dans la lagune Aghien. L'estimation annuelle confirme que le Zn et le Pb sont les métaux les plus exportés dans cette lagune avec des valeurs de plus de 4 kg.an⁻¹. Ils sont suivis par le Ni et le Cr avec des flux inférieurs à 3 kg.an⁻¹. Les valeurs de Eh (tableau I) montrent que les effluents liquides se trouvent dans les conditions réductrices (baisse de l'oxygène), ce qui indique que le phénomène d'anaérobiose est prédominant dans la décharge. En effet, l'oxygène est fortement sollicité pour la dégradation de la matière organique et l'oxydation des minéraux présents dans l'effluent [3]. Hormis l'élément Zn, les teneurs en ETM présents dans les eaux échantillonnées sont supérieures aux normes émises par l'OMS. A titre de comparaison, les teneurs déterminées dans une étude antérieure par Kouamé [2] sont largement supérieures à celles observées dans le présent travail. Cela peut s'expliquer par un effet de dilution des solutions [7] consécutives aux pluies plus ou moins abondantes survenues entre la réalisation des deux travaux.

3.2- Caractéristiques chimiques pH, Eh et teneurs des ETM dans les eaux filtrées

3.2.a- Le Potentiel d'Hydrogène (pH)

La figure 3 montre l'évolution du pH des eaux dans les bacs après leur épuration dans les bacs avec plante et les bacs témoins sans plante. Le pH des solutions témoin baisse avant d'augmenter en variant de 6,8 à 8 après une phase d'acidification. Pour les eaux issues des bacs contenant les plantes, les valeurs de pH sont plus basses que celles du témoin. Elles décroissent de 7,6 à 6,6. Si le pH des échantillons traités par la plante tend à être neutre, celui des bacs témoins tend à être alcalin. Dans les bacs témoins, l'alcalinisation observée induit souvent la formation d'espèces précipitées qui peuvent limiter la solubilité et la biodisponibilité de toutes les espèces ioniques [8]. Cependant, elle entraîne également la dissolution de matières organiques et la formation consécutive de complexes organométalliques plus solubles. Les variations de pH ont donc des conséquences complexes et parfois contraires sur la mobilité des métaux lourds, en particulier en présence de ligands organiques et inorganiques [9]. L'acidification du pH dans les bacs contenant le *Phragmites Karka* montre que ce matériel végétal a modifié le pH dans la rhizosphère [10]. Les microorganismes générés par les plantes abaissent le pH, même s'il y a possibilité de neutralisation dans l'eau [11].

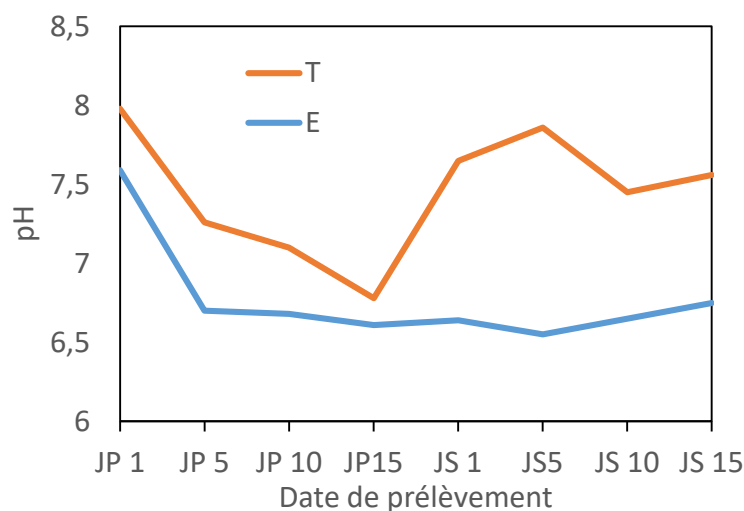


Figure 3 : Evolution du pH du lixiviat sans passage (T) et avec passage (E) dans les filtres à plantes prélevé aux jours pluvieux (JP) et jours secs (JS)

3.2.b- Le potentiel Redox (Eh)

Le potentiel redox ne présente pas de tendance tranchée lorsque l'on compare ses valeurs pour les eaux des bacs témoins aux eaux des bacs plantés (Tableau II). Quel que soit le milieu considéré, on observe une modification de l'Eh à partir du premier jour de l'expérimentation. Les valeurs de l'Eh diminuent dans l'ensemble dans les bacs plantés alors qu'elles ont tendance à augmenter dans les bacs témoins.

Tableau II: Valeurs de Eh des lixiviats filtrés en absence de matériel végétal (T1, T2, T3, T) et filtrés en présence de matériel végétal (E1, E2, E3, E)

Dates	Témoins			Echantillons		
	1 ^{ere} mesure	2 ^{ème} mesure	3 ^{ème} mesure	1 ^{ere} mesure	2 ^{ème} mesure	3 ^{ème} mesure
Jour pluvieux 1	14,70	17,70	3,40	10,30		-9,30
Jour pluvieux 15	8,50	11,90	-22,50	17,40	16,81	11,60
Jour sec 1	6,40	10,10	-13,30	42,80	-10,09	34,20
Jour sec 15	-24,30	3,10	10,40	28,80	22,30	11,40

La diminution du Eh dans les bacs plantés pourrait être associée à des processus biogéochimiques dans la rhizosphère de *Phragmites karka* [10]. En effet, les microorganismes générés par les plantes se nourrissent des matières biodégradables contenues dans les eaux et les transforment en sels minéraux. Il y a consommation d'oxygène [12] ce qui abaisse donc l'Eh.

3.2.c- Teneurs en ETM du lixiviat traité

Les eaux des bacs plantés ont dans l'ensemble des teneurs toujours plus basses que celles des bacs témoins comme le montrent les valeurs consignées dans le tableau V. Les écarts de teneurs en ETM entre les bacs plantés et les bacs témoins varient de 0,02 à 0,03 pour le Cr ; de 0,04 à 0,08 pour le Zn ; de 0,02 à 0,03 pour le Pb ; de 0,00 à 0,03 pour le Ni. L'effet plante est ainsi principalement observable pour le Cr, le Zn et le Pb. Ceci pourrait s'expliquer par une solubilisation ou non des phases minérales présentes dans les substrats.

Tableau V : Teneurs des ETM dans les eaux traitées par les filtres plantés (E) et les témoins (T)

Dates	ETM							
	Cr		Zn		Pb		Ni	
	E	T	E	T	E	T	E	T
Jour pluvieux 1	0,03	0,07	0,02	0,06	0,06	0,08	0,04	0,06
Jour pluvieux 15	0,05	0,07	0,03	0,11	0,04	0,07	0,04	0,06
Jour sec 1	0,03	0,06	0,05	0,12	0,03	0,06	0,04	0,07
Jour sec 15	0,02	0,05	0,04	0,08	0,05	0,08	0,07	0,07

Les taux moyens de réduction des ETM dans les bacs plantés ont été estimés à partir des données du Tableau V. Ces résultats présentés à la figure 4 traduisent le taux d'absorption ou de séquestration des ETM dans les bacs plantés. Les histogrammes montrent que les bacs plantés ont permis une baisse drastique des teneurs en ETM en comparaison des solutions témoin.

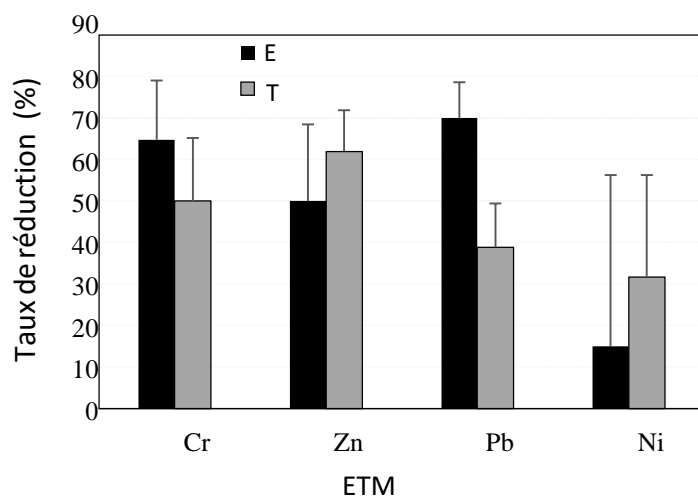


Figure 4 : Taux moyen de réduction (%) des ETM dans les bacs plantés (E) et les bacs témoins (T). Les barres verticales indiquent les pourcentages dans les solutions avec leurs écartypes.

Cet effet plante est particulièrement accru pour les éléments Pb, Cr, Zn mais sans incidence sur le Ni. Une étude comparable avec le même matériel végétal a été conduite par Yuka [13]. Celle-ci a montré une épuration des ETM tels que le Cu, le Cd et de façon plus prononcée le Zn. La réduction des ETM dans les solutions pourrait s'expliquer par une conjugaison des processus d'adsorption sur les phases minérales présentes et d'absorption par les plants racinaires dans les dispositifs expérimentaux de filtres plantés. Dans le cas de l'adsorption, les atomes ou molécules se fixent sur la surface solide du substrat. En effet, certains minéraux comme les argiles, dont celles utilisées dans notre étude comme substrats dans les bacs témoins et les bacs plantés, sont d'excellents adsorbants grâce à leurs très grandes surfaces spécifiques. Naturellement présentes en petites quantités dans les sols, les argiles peuvent être de bons adsorbants et de ce fait être utilisées comme amendements pour augmenter la capacité de rétention des métaux lourds d'un sol. Le processus d'absorption, quant à lui, provient de la propension naturelle

qu'ont les plantes hyperaccumulatrices comme le phragmites karka à absorber les métaux par leurs racines et à accumuler des niveaux élevés de micronutriments essentiels. L'absorption s'étend aussi à des quantités importantes de métaux non essentiels comme le Pb, le Cr [14]. L'absorption de métaux toxiques par la biomasse racinaire est décrite comme un processus actif qui dépend de la capacité d'absorption de la plante et de l'apport de celle-ci à partir de la zone racinaire [15,16]. Une approche progressive de l'absorption des métaux par le processus de la biomasse racinaire comprendrait (i) le déplacement du contaminant métallique vers la surface absorbante de la racine, (ii) le transport du flux de métal à travers les membranes des cellules racinaires dans la biomasse racinaire. Le déplacement du contaminant métallique vers la surface des racines se fait par des mécanismes simultanés de flux massique et de diffusion [17]. Le flux massique décrit le mouvement des contaminants vers la surface des racines lorsque la plante absorbe de l'eau pour répondre aux besoins de transpiration. Lorsque l'eau se déplace vers la surface des racines, le contaminant métallique dissous est également transporté vers la surface des racines. De plus, la concentration en métaux à l'interface eau-racine peut s'accumuler ou s'épuiser. En effet, le flux de diffusion se fait soit vers la surface des racines, soit en s'éloignant de celle-ci, selon le gradient de concentration établi entre la surface des racines et la solution environnante. Les contaminants métalliques diffusent vers la biomasse racinaire s'ils sont absorbés plus rapidement qu'ils ne sont transportés à la surface des racines par le flux massique. De même, les contaminants métalliques diffusent loin de la surface des racines si leur absorption par les racines est plus lente que le transfert de masse. Les ions métalliques ont également tendance à se concentrer davantage à la surface de la racine, qui commence normalement à diffuser loin de la surface de la racine. Lorsqu'ils atteignent la surface de la racine, le métal est adsorbé sur les sites extracellulaires chargés négativement des parois cellulaires de la racine et ne peut donc pas se déplacer librement dans les cellules en raison des barrières efficaces que constituent les membranes. Le transport de ce métal absorbé est assuré par des molécules porteuses (protéines membranaires) ayant des fonctions de transport, appelées génériquement transporteurs [18]. Ces transporteurs se lient sélectivement aux ions et aux molécules métalliques, ce qui leur permet de passer à l'intérieur de la cellule racinaire. Ainsi, il est donc tout à fait concevable que dans cette étude, le *Phragmites karka* ait été capable d'adsorber et d'absorber les ETM sur et dans ses racines avec une sélectivité croissante $Pb > Cr > Zn > Ni$ [19].

4. Conclusion

L'objectif de cette étude était de tester la phytoremédiation à travers le processus de rhizofiltration des eaux usées contenant des éléments traces métalliques à l'aide d'une plante tropicale le *Phragmites Karka*. L'analyse des paramètres physico-chimiques et teneurs en ETM du lixiviat de la décharge montre un niveau relativement pollué de celui-ci. L'expérimentation menée dans des conditions environnementales contrôlées sur le lixiviat a montré un fort taux de réduction des ETM dans les bacs plantés par rapport aux bacs témoins (bacs sans plantes). Dans les bacs témoins, la présence de minéraux intrinsèques des substrats a également permis de réduire la teneur des ETM dans le lixiviat mais avec un moindre effet qu'en présence de plantes. Ces résultats suggèrent clairement un effet plante dû au double processus d'adsorption et d'absorption des ETM au niveau des racines de *Phragmites Karka*. L'optimisation de ce processus nécessite de comprendre à l'échelle moléculaire les interactions entre les ligands racinaires du *Phragmites Karka* et les ETM afin de rendre plus efficient les mécanismes qui les gouvernent aux interfaces. Ultérieurement, les résultats de cette étude seront utilisés pour l'assainissement des masses d'eau contaminées par des métaux en utilisant la biomasse végétale. Notamment, des zones tampons ou microsites expérimentaux contenant ces plantes hyperaccumulatrices seront créés et disposés, in-situ, pour être traversés par les eaux de lessivage, les eaux domestiques et les eaux pluviales en aval des lagunes.

5. Bibliographie

- [1] Rapport de l'Office National de l'Eau Potable (2016) Informations générales sur les bornes fontaines yacoli modifiées et leur gestion, ministère des infrastructures économiques, direction de l'hydraulique rurale et péri-urbaine, 33p.
- [2] Kouamé K.I., (2007) Pollution physico-chimique des eaux dans la zone de la décharge d'Akouedo et analyse du risque de contamination de la nappe d'Abidjan par un modèle de

- simulation des écoulements et du transport des polluants. Thèse de Doctorat, Université d'Abobo Adjamé, Côte d'Ivoire, 212 p.
- [3] Kouassi A.E., Ahoussi K.E., Koffi Y.B., Kouame I.K., Soro N., Biemi J., (2014) Caractérisation physico-chimique du lixiviat d'une décharge de l'Afrique de l'Ouest : cas de la décharge d'Akouedo (Abidjan-Côte d'Ivoire). Larhyss Journal, ISSN 1112-3680, n°19, pp. 63-74.
- [4] Kouadio G., Dongui, Trokourey, A., (2000) Détermination de la pollution chimique des eaux de la zone de la décharge d'Akouédo (Abidjan- Côte d'Ivoire). Revue des Sciences et Technologie, ENS-CI. Série A-O1, p 34-41.
- [5] Tchobanoglous G., Vigil, Hillary Theisen S.A., (1993) Integrated Solid waste management, McGrawHill international Edition, New York, 978p.
- [6] Kjeldsen P., Barlaz M.A., Rooker A.P., Baum A., Ledin A., Christensen T.A. (2002) Present and long-term composition of MSW landfill leachate, Crit. Rev., Environ. Sci. Technol., Vol. 32, n°4, pp.297-336.
- [7] Yuka, U. N, Mohammed, H; A., and Aina, E. (2012). Preliminary studies on the phytoremediation potential of phragmites karka (Retz) in Asa River. Journal of fisheries

Synthèse et études physico-chimiques de complexes de la phtalocyanine d'or substituée à la périphérie pour des applications en photo-électrocatalyse

Aristide NITIEMA¹, Lassané TARPAGA¹, Bertrand OUEMEGA¹, Mabinty BAYO^{1*}, Karifa BAYO¹

1. Laboratoire de Chimie Moléculaire et des Matériaux, UFR/SEA, Université Joseph KI ZERBO, 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

*Auteur correspondant : mabintybayo@yahoo.fr

Groupe Thématique : Chimie des Matériaux (ReMOA)

Résumé : Nous avons préparé et caractérisé par spectrométries électronique et vibrationnelle la phtalocyanine d'or (AuPc) et pour la première fois ses dérivés octacyané AuPc(CN)₈ et octacarboxylé AuPc(COOH)₈ en nous référant aux travaux précédents sur leurs homologues de Fer, de Cobalt et de Zinc. En spectrométrie électronique, les spectres montrent les bandes caractéristiques des métallophthalocyanines avec notamment leur déplacement vers les grandes longueurs d'ondes (effet bathochrome) et ce déplacement est accentué par la présence de huit substituants à la périphérie du macrocycle. L'analyse des spectres infrarouge a permis de mettre en évidence dans les spectres des dérivés AuPc(CN)₈ et AuPc(COOH)₈, de nouvelles bandes de vibration attribuables aux substituants équatoriaux. La bande de vibration des groupements nitriles apparaît à 2220 cm⁻¹ et celle de la fonction carbonyle à 1703 cm⁻¹. Une large bande attribuable aux fonctions OH est observée entre 2500 et 3200 cm⁻¹. Tous nos résultats sont similaires aux résultats obtenus avec ZnPc(CN)₈ et FePc(COOH)₈ et montre que les composés souhaités ont été obtenus. Nous envisageons d'utiliser ces complexes en photo-électrocatalyse pour la dégradation des polluants. Pour cela nous allons caractériser ces complexes par des techniques électrochimiques.

Mots clés : Phtalocyanine, Or, Photocatalyse, Electrocatalyse.

Abstract : We have prepared and characterized by electronic and vibrational spectrometry gold phthalocyanine (AuPc) and for the first time its octacyanated AuPc(CN)₈ and octacarboxylated AuPc(COOH)₈ derivatives with reference to previous work on their iron, cobalt and zinc counterparts. In electronic spectrometry, the spectra show the characteristic bands of metallophthalocyanines with notably their shift towards longer wavelengths (bathochrome effect) and this shift is accentuated by the presence of eight substituents at the periphery of the macrocycle. The analysis of the infrared spectra allowed to highlight in the spectra of the derivatives AuPc(CN)₈ and AuPc(COOH)₈, new bands of vibration attributable to the equatorial substituents. The vibration band of the nitrile groups appears at 2220 cm⁻¹ and that of the carbonyl function at 1703 cm⁻¹. A broad band attributable to OH functions is observed between 2500 and 3200 cm⁻¹. All our results are similar to the results obtained with ZnPc(CN)₈ and FePc(COOH)₈ and show that the desired compounds were obtained. We plan to use these complexes in photoelectrocatalysis for the degradation of pollutants. For this purpose we will characterize these complexes by electrochemical techniques.

Keywords: Phthalocyanine, Gold, Photocatalysis, Electrocatalysis.

1. Introduction

Les travaux concernant les précurseurs de matériaux moléculaires se sont beaucoup développés ces dernières années. Les qualités particulières de ces précurseurs peuvent être exploitées lorsque ces composés sont organisés sous forme de phases condensées. Pour le chimiste, les outils de synthèse permettent de moduler les propriétés physico-chimiques de la molécule initiale, afin de lui attribuer les qualités recherchées. Les matériaux organiques obtenus possèdent ainsi les propriétés dérivant de celles des molécules isolées, avec cependant des modifications dues aux interactions au sein des phases condensées. De par leurs structures, les phtalocyanines sont des candidats de choix pour l'obtention de tels matériaux. Les phtalocyanines et leurs dérivés substitués sont des composés qui absorbent dans la zone du spectre comprise entre 200-900 nm avec un maximum d'absorption qui se situe autour de 700 nm. En raison de leur système π étendu à 18 électrons conjugués, les phtalocyanines (Pcs) présentent diverses propriétés physico-chimiques (optiques, magnétiques, conductrices, photoconductrices, etc. .) [1, 2]. La substitution périphérique des phtalocyanines avec des groupements fonctionnels électroattracteurs améliore leurs propriétés notamment les propriétés optiques, leur solubilité facilitant de ce fait leur étude en solution. Des études récentes ont montré le potentiel élevé des

photosensibilisateurs à base d'une métallophthalocyanine octa-carboxylée en photocatalyse. Le couplage avec l'électrochimie pour donner la « photo-électrocatalyse » pourrait être particulièrement intéressante pour mieux contrôler la sélectivité avec l'apport du potentiel d'électrode et des conditions électrolytiques, pouvant ainsi faire de la photo-électrocatalyse une technologie de choix pour la dépollution et l'intégration des eaux usées L'or longtemps considéré comme un matériau inerte, est de plus en plus utilisé dans la conception de nanomatériaux en raison des propriétés optiques, électroniques, photoniques, magnétiques et catalytiques intrinsèques qu'il révèle à l'échelle nanométrique [3,4].

Nous pensons ainsi, par l'association du macrocycle phthalocyanine au métal or, allier les propriétés individuelles de chacune des composantes (effets coopératifs) mais aussi obtenir des propriétés nouvelles (effets synergiques), ce qui sera un atout pour les applications envisagées en électro-photocatalyse. Nous nous sommes donc proposés de préparer et de caractériser par des méthodes physicochimiques, des complexes substitués de la phthalocyanine d'or afin d'en avoir une meilleure connaissance et de les proposer pour des applications électro-photocatalytiques. Jusqu'au début de ce travail, nous n'avons trouvé aucune étude sur les complexes substitués en périphéries de la phthalocyanine d'or.

2. Matériel et méthodes

Les réactifs obtenus chez Aldrich ont été utilisés sans purification supplémentaire.

2. 1. Préparation de la phthalocyanine d'or (AuPc)

Nous avons préparé la phthalocyanine d'or selon le schéma réactionnel ci-dessous (schéma 1) comme décrit dans des travaux déjà effectués [5].

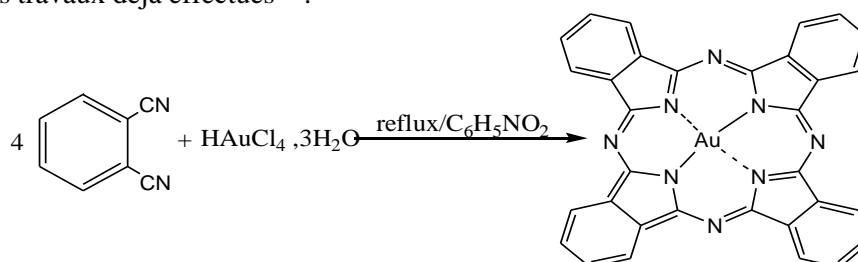


Schéma 1 : Synthèse de AuPc

Dans un ballon monocol de 250 mL, on introduit successivement 506 mg ($1,284 \cdot 10^{-3}$ mol) d'acide tétrachloroaurate trihydraté, 660 mg ($5,15 \cdot 10^{-3}$ mol) de 1,2- dicyanobenzène (phthalonitrile) et 5 mL de nitrobenzène. Le mélange est porté au reflux pendant 20 minutes. Initialement de couleur jaune, le milieu réactionnel vire au rouge brique, puis au vert.

Après refroidissement à la température ambiante, le produit est précipité dans l'acétone et filtré afin d'obtenir le produit sous forme solide.

Purification

Le précipité est soumis aux traitements basique, acide, à l'EDTA et est ensuite lavé au soxhlet avec du toluène, puis avec de l'acétone. Le traitement basique permet d'éliminer les impuretés organiques (excès de réactifs, produits de dégradation des réactifs). Il consiste à porter le produit au reflux de 100 ml d'une solution aqueuse de NaOH 10 %. Après une quinzaine de minutes, le produit est filtré à chaud, lavé abondamment à l'eau distillée et rincé avec de l'acétone. Le solide récupéré est ensuite traité par 100 ml d'une solution aqueuse de HCl 10 % par le même procédé que le traitement basique. L'action de l'acide élimine les éventuels cations métalliques [6]. Par la suite, le produit bleu obtenu est agité pendant 30 minutes dans 100 ml d'une solution d'EDTA (10^{-2} M) pour s'assurer de l'élimination totale des cations restés libres. Pour terminer, le produit est lavé au soxhlet avec du toluène, puis avec l'acétone jusqu'à élimination totale du toluène. Le lavage dure quarante-huit-heures par solvant. On obtient une poudre bleue avec un rendement de 37 %.

2. 2. Préparation des métallophthalocyanines substituées à la périphérie.

2.2.1. Préparation de AuPc(CN)₈

Nous avons préparé AuPc(CN)₈, suivant le schéma réactionnel ci-dessous (schéma 2).

On mélange 1,45 g ($8,14 \cdot 10^{-3}$ mol) de 1, 2, 4, 5-tétracyanobenzène et 0,8 g ($2 \cdot 10^{-3}$ mol) d'acide tétrachloroaurate trihydraté dans un ballon monocol de 250 mL. Le mélange réactionnel est porté au reflux dans du nitrobenzène pendant quarante-cinq minutes. Après 15 minutes de chauffage, Le milieu réactionnel initialement de couleur jaune devient vert. Cette coloration s'intensifie et un précipité apparaît. Après refroidissement à température ambiante, le produit est filtré et lavé à l'éthanol pour éliminer le nitrobenzène puis séché.

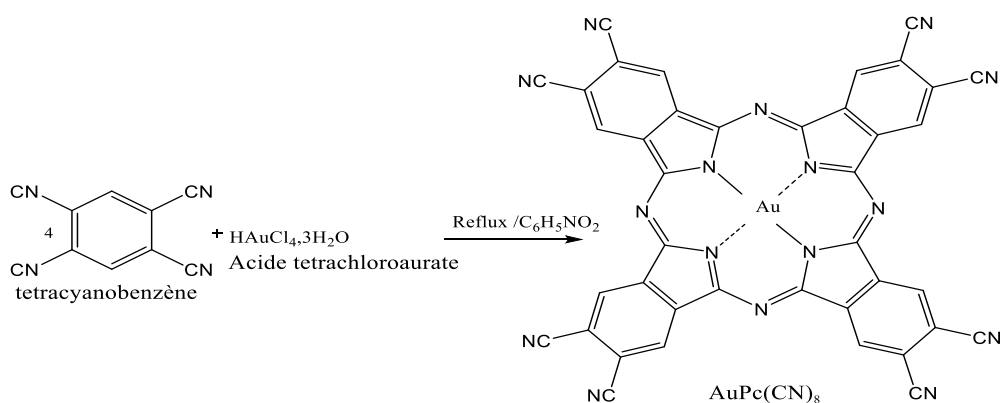


Schéma 2 : Synthèse de AuPc(CN)₈

Purification du produit obtenu

Le produit brut ainsi obtenu est lavé au soxhlet successivement avec le toluène, le méthanol et l'éthanol (48 h par solvant). On obtient 620 mg de poudre verte avec un rendement de 35 %. Le composé obtenu est assez soluble dans le solvant de synthèse, le diméthylsulfoxyde (DMSO), la pyridine, l'acétone, le diméthylformamide (DMF). Il est insoluble dans le toluène, le méthanol, l'éthanol, le chloroforme et le dichlorométhane.

2.2.2. Préparation de AuPc(COOH)₈

Nous avons préparé AuPc(COOH)₈, suivant les schémas réactionnel ci-dessous (schéma 3).

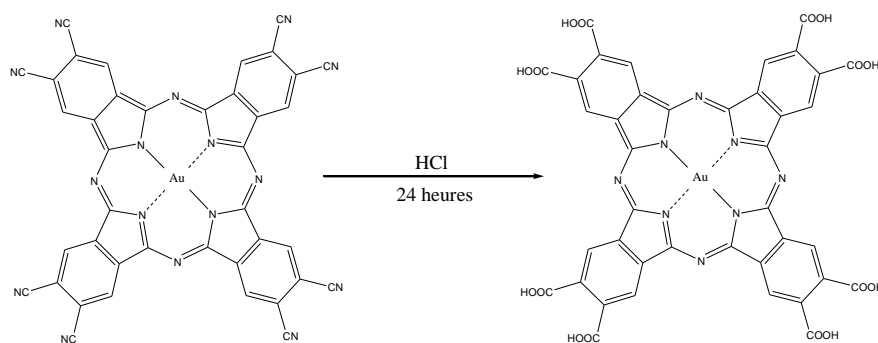


Schéma 3 : Synthèse de AuPc(COOH)₈

Dans un ballon monocol de 100 mL contenant 25 mL de HCl 4 N (0,1 mol), nous avons introduit 0,5 g ($5,5 \cdot 10^{-4}$ mol) de $\text{AuPc}(\text{CN})_8$. Le composé est porté au reflux de HCl 4 N pendant 24 heures. Après hydrolyse, le produit a été rincé avec l'eau distillée jusqu'à élimination de l'acide et séché.

Le produit a été ensuite dissous dans une solution de NaOH (0,1 N), filtré et précipité avec une solution de HCl 4N. Les processus de solubilisation et de précipitation ont été repris plusieurs fois. Ils ont permis de transformer les -CN en -COOH. On obtient 0,3 g de poudre verte sombre soit un rendement de 60 %. Le composé obtenu est assez soluble dans le diméthylsulfoxyde (DMSO), le diméthylformamide (DMF), la pyridine, le chloroforme. Il est insoluble dans le toluène, le méthanol, l'éthanol, l'acétone et le dichlorométhane.

2.4. Appareillage

Spectroscopie d'absorption infrarouge : les spectres IR ont été enregistrés entre 400 - 4000 cm^{-1} à l'aide d'un spectromètre de type Brucker TENSOR 27, ATR diamant.

Spectroscopie d'absorption optique : les spectres UV-visible ont été enregistrés entre 300 et 900 nm à partir de composés dissous dans le diméthylsulfoxyde (DMSO), dans le diméthylformamide (DMF) à l'aide d'un spectromètre de type **190 DES (Double Energie Système)**.

3. Résultats et discussion

3.1. Caractérisation des complexes par la spectroscopie vibrationnelle

3.1.1. Présentation des spectres

D'une manière générale, les spectres des complexes octacarboxylé $[\text{AuPc}(\text{COOH})_8]$ et octacyané $[\text{AuPc}(\text{CN})_8]$ se différencient de celui de AuPc. On note d'une part la disparition ainsi que l'apparition de nouvelles bandes ; d'autre part le déplacement, la variation de l'intensité de certaines bandes et la présence de nouvelles bandes comme le montrent les résultats regroupés dans le tableau 1.

Tableau 1 : fréquences de vibrations des bandes remarquables de AuPc, $\text{AuPc}(\text{CN})_8$ et de $\text{AuPc}(\text{COOH})_8$ en cm^{-1} .

AuPc	$\text{AuPc}(\text{CN})_8$	$\text{AuPc}(\text{COOH})_8$	Attributions
Fréquences de vibrations (cm^{-1})			$\Phi_{\text{C-C}}$
-	-	642 f	
-	672 f	-	
720 TF	718 F	732 F	$\nu_{\text{C-H}}$
757 F	737 F	-	$\delta(\text{C-N})$ du cycle pyrrole
775 F	-	790 m	$\gamma_{\text{C-H}}$
-	802 f	-	
-	882 m	-	
916 F	904 F	915 m	Vibration du métal dans le plan du macrocycle
-	-	1008 m	
1098 m	1030 F	1092 F	
1106 F	1100 F	1107 m	C-C benzénique
1126 F	1160 m	-	$\beta_{\text{C-H}}$
1170 F	1190 m	1141 m	$\nu_{\text{C-N}}$
-	1210 m	-	
-	-	1233 F	$\nu_{\text{C-O}}$
1295 F	1300 F	1265 F	$\nu_{\text{C-C}}$
1333 F	1360 m	1320 m	$\nu_{\text{C-N}}$
-	-	1372 f	
1426 F	1410 F	-	
-	1440 m	1440 m	$\nu_{\text{C-C}}$
1517 m	1510 F	1516 m	$\nu_{\text{C-C}}$
1613 m	1610 F	1590 F	$\nu_{\text{C-C}}$
-	-	1645 m	
-	-	1703 TF	$\nu_{\text{C=O}}$
-	1720 F	-	Vibration C=N du cycle phthalocyanine
-	1770 m	-	
-	2220 TF	-	$\nu_{\text{C=N}}$
-	-	2500-3200 l	Bande large $\nu_{\text{O-H}}$

T = très F = fort m = moyen f = faible l = large

Le domaine 700-1000 cm^{-1} , correspondant aux vibrations de déformations des liaisons C-H hors du plan, est perturbé par la substitution périphérique des huit atomes d'hydrogènes (figures 1 et 2). La bande

autour de 757 cm^{-1} présente dans le spectre de AuPc est observée à 737 cm^{-1} dans le spectre de AuPc(CN)₈ mais est absente dans celui de AuPc(COOH)₈, celle autour de 775 cm^{-1} dans le spectre de AuPc diminue d'intensité et apparaît à 790 cm^{-1} dans le spectre de AuPc(COOH)₈ mais est absente dans le spectre du dérivé octacyané. Cependant la bande $\nu_{\text{C-H}}$ à 720 cm^{-1} diminue d'intensité et apparaît respectivement à 718 et 732 cm^{-1} dans les spectres du dérivé octacyané et octacarboxylé. On observe aussi l'apparition de bandes à faible intensité dans les spectres des dérivés octasubstitués.

Entre 1000 et 1300 cm^{-1} , les bandes qui apparaissent autour de 1106 et 1170 cm^{-1} dans le spectre de AuPc, diminuent d'intensité dans les spectres des dérivés substitués; celle autour de 1126 cm^{-1} n'est pas observée dans les spectres du dérivé octacarboxylé. En revanche une bande d'intensité forte est présente autour de 1233 cm^{-1} dans le spectre du dérivé octacarboxylé. On observe aussi l'apparition d'une bande de faible intensité à 1210 cm^{-1} dans le spectre de AuPc(CN)₈.

Les vibrations de déformations des liaisons C-H dans le plan ainsi que certaines bandes du domaine $1300-1600\text{ cm}^{-1}$ attribuées aux vibrations des liaisons C-C et C-N sont très perturbées par la présence des groupements -COOH et -CN. Dans ce domaine sensible aux déformations des liaisons C-C des cycles benzéniques, on note par exemple la variation de l'intensité des bandes autour de 1333 cm^{-1} et 1517 cm^{-1} dans les spectres des dérivés substitués. On note aussi l'absence de la bande à 1426 cm^{-1} dans le spectre du dérivé octacarboxylé et l'apparition d'une bande d'intensité moyenne autour de 1440 cm^{-1} dans les spectres des dérivés substitués.

La modification majeure dans le spectre du dérivé octacyané est l'apparition d'une bande intense à 2220 cm^{-1} . Quant au spectre du dérivé octacarboxylé on observe une bande intense autour de 1703 cm^{-1} et un large massif entre 2500 et 3200 cm^{-1} (figures 1 et 2).

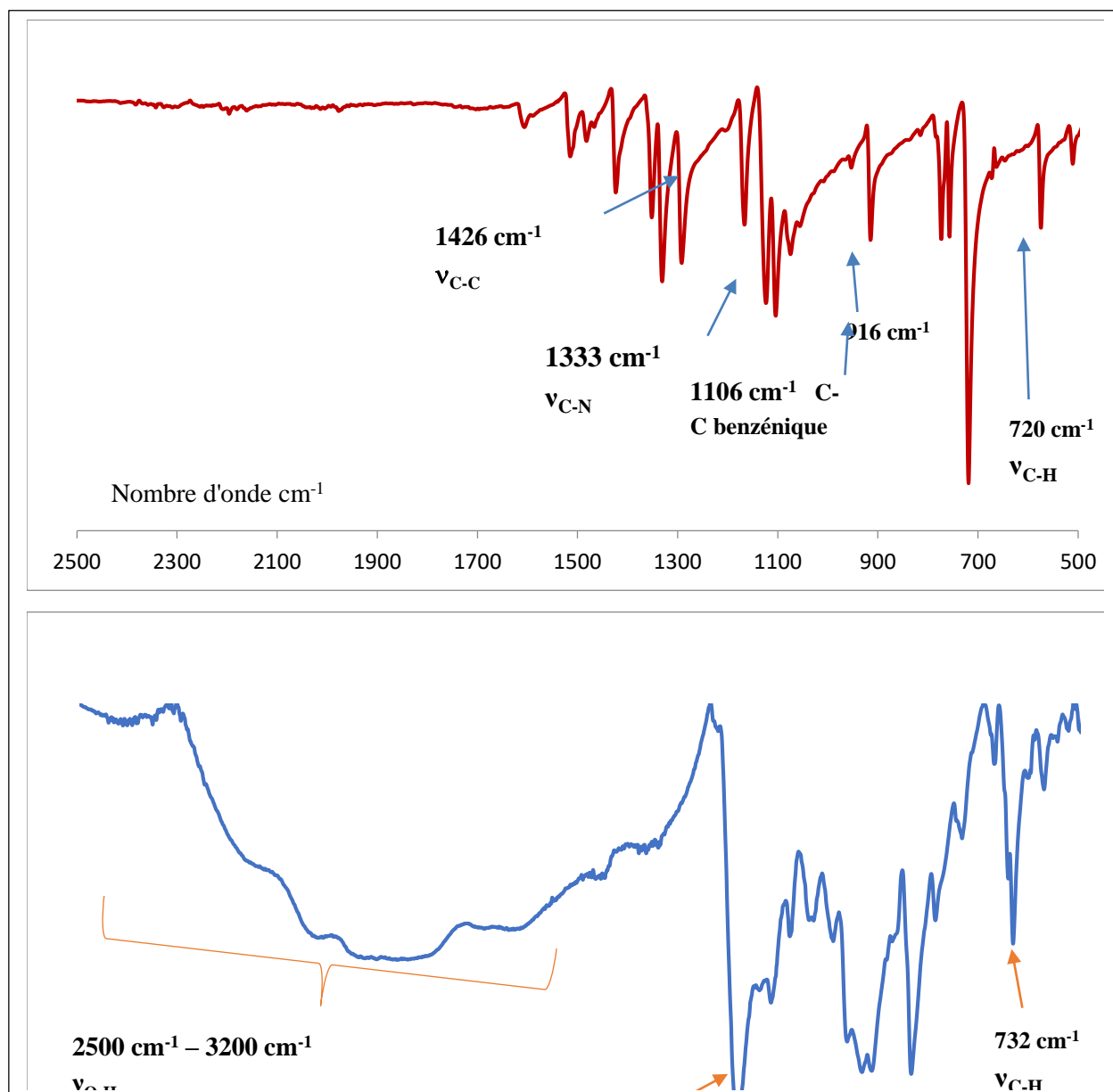
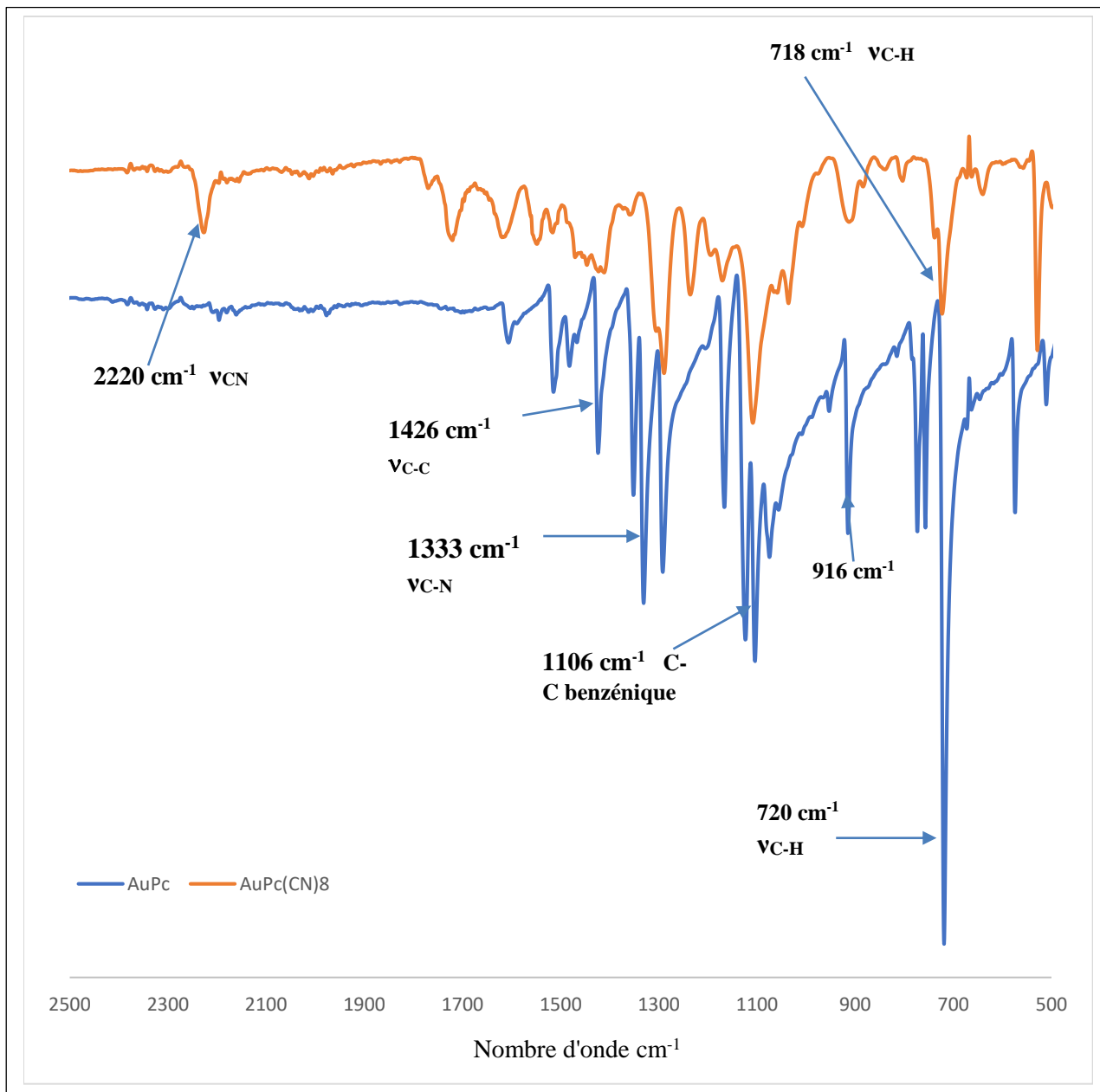


Figure 1: Spectres infrarouge de AuPc et de AuPc(COOH)₈



3.1.2. Discussion des résultats

D'une manière générale, dans le domaine 700-1600 cm^{-1} , nous observons les mêmes bandes de vibrations avec cependant des modulations d'intensités et de fréquences. Cela montre que les systèmes vibreurs sont très peu différents dans les trois composés que sont AuPc, AuPc(CN)₈ et AuPc(COOH)₈.

Les modifications des domaines des vibrations de déformation des liaisons C-H hors du plan et dans le plan du macrocycle phthalocyanine montrent que la nature des liaisons en périphérie du macrocycle est différente. Ainsi l'absence des bandes $\nu_{\text{C-H}}$ autour de 757 cm^{-1} , 775 cm^{-1} respectivement dans le spectre de AuPc(COOH)₈ et AuPc(CN)₈, la diminution d'intensité de la bande à 720 cm^{-1} prouve la substitution partielle des hydrogènes périphériques. L'obtention du complexe AuPc(CN)₈ est confirmée par la présence de la nouvelle bande à 2220 cm^{-1} ; cette bande est attribuable aux vibrations des groupements nitriles (CN) par analogie avec les résultats de la littérature [7]. L'obtention de celui de AuPc(COOH)₈ est confirmée par la présence de deux nouvelles bandes à 1703 cm^{-1} et 1233 cm^{-1} ; ces bandes sont respectivement attribuées aux vibrations d'élongation $\nu_{\text{C=O}}$ et $\nu_{\text{C-O}}$ par analogie avec les résultats de la littérature [8, 9]. La présence de la large bande entre 2500 cm^{-1} et 3200 cm^{-1} corrobore d'avantage

l'obtention du complexe $\text{AuPc}(\text{COOH})_8$. Cette bande peut être attribuée à la vibration d'élongation ($\nu_{\text{O-H}}$), notamment à celle de groupements O-H impliqués dans des liaisons hydrogène intra et intermoléculaires. En effet, dans les composés organiques, la vibration d'élongation $\nu_{\text{O-H}}$ des acides carboxyliques monomères se situe généralement entre 3350 et 3500 cm^{-1} [8, 9]. La formation de dimères élargit la zone de vibration qui s'étend alors entre 2500 et 3500 cm^{-1} . La largeur et la position de la bande résulteraient de fortes interactions entre les groupements carboxyliques périphériques. Nous pensons donc que l'échantillon de $\text{AuPc}(\text{COOH})_8$ que nous avons préparé est un mélange de monomères et de dimères. La littérature rapporte des résultats similaires avec $\text{ZnPc}(\text{COOH})_8$ [9].

3.2. Caractérisation des complexes par la spectroscopie d'absorption électronique

3.2.1. Présentation des spectres

➤ Présentation des spectres obtenus à partir de solutions des composés dissous dans le DMSO

D'une manière générale la substitution des hydrogènes périphériques entraîne un déplacement des deux bandes principales vers les grandes longueurs d'onde (effet bathochrome). La bande Q est déplacée d'environ 20 nm pour $\text{AuPc}(\text{CN})_8$ et d'environ 30 nm pour $\text{AuPc}(\text{COOH})_8$. De plus elle est plus large que celle de AuPc (figures 3 et 4). Quant à la bande B, son déplacement est d'environ 20 nm dans les spectres des dérivés substitués (figures 3 et 4). L'épaule apparaissant à 617 nm dans le spectre de AuPc est situé respectivement autour de 625 nm et 640 nm dans les spectres de $\text{AuPc}(\text{CN})_8$ et de $\text{AuPc}(\text{COOH})_8$. Une nouvelle bande sous forme d'un épaulement est observée à 580 nm dans le spectre de $\text{AuPc}(\text{CN})_8$ et à 588 nm dans celui de $\text{AuPc}(\text{COOH})_8$. Une bande de faible intensité apparaît autour de 800 nm. Les longueurs d'onde des bandes de transition relevées au maximum d'absorption sont regroupées dans le tableau 2.

Tableau 2: maxima d'absorption des spectres UV-visible des solutions de AuPc , $\text{AuPc}(\text{CN})_8$ et $\text{AuPc}(\text{COOH})_8$ dans le DMSO, enregistrés entre 300-900 nm.

Composés	Maxima des bandes d'absorption (nm)				
	λ_B	λ_e	λ_e	λ_Q	$\lambda_{d \rightarrow d}$
AuPc	319 et 352	617	-	680	-
$\text{AuPc}(\text{CN})_8$	338 et 368	625	580	700	775
$\text{AuPc}(\text{COOH})_8$	338 et 373	640	588	710	850

e = épaulement

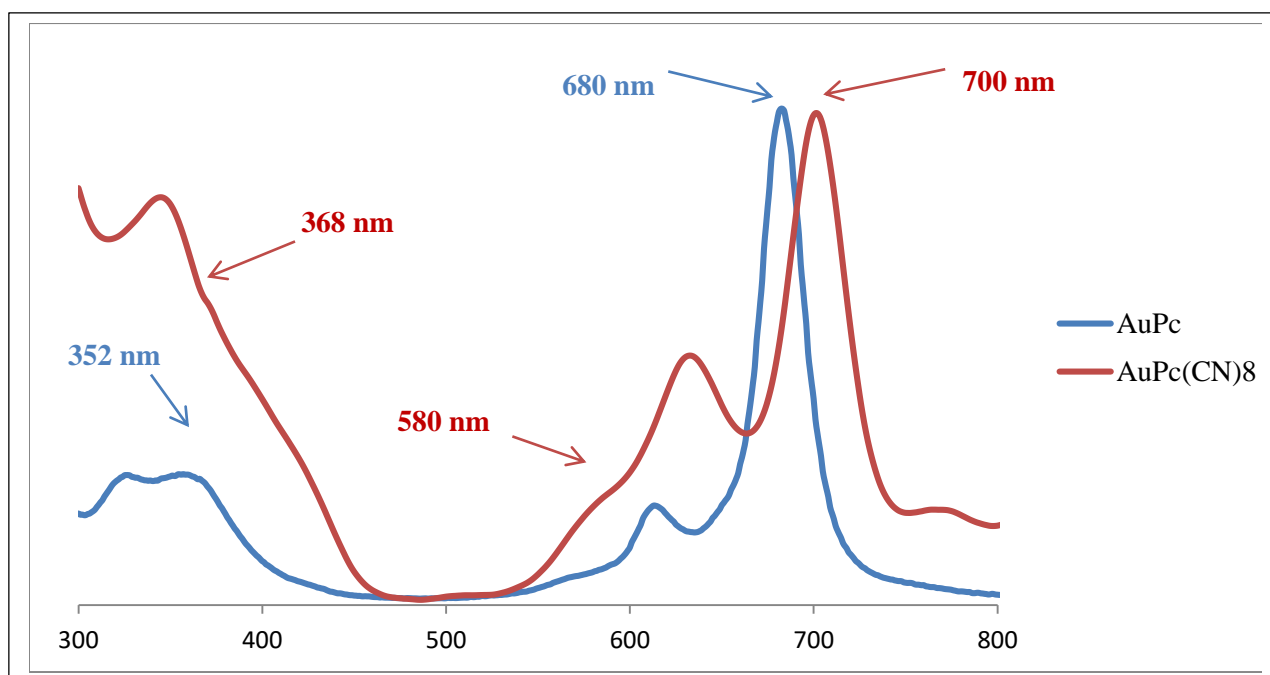
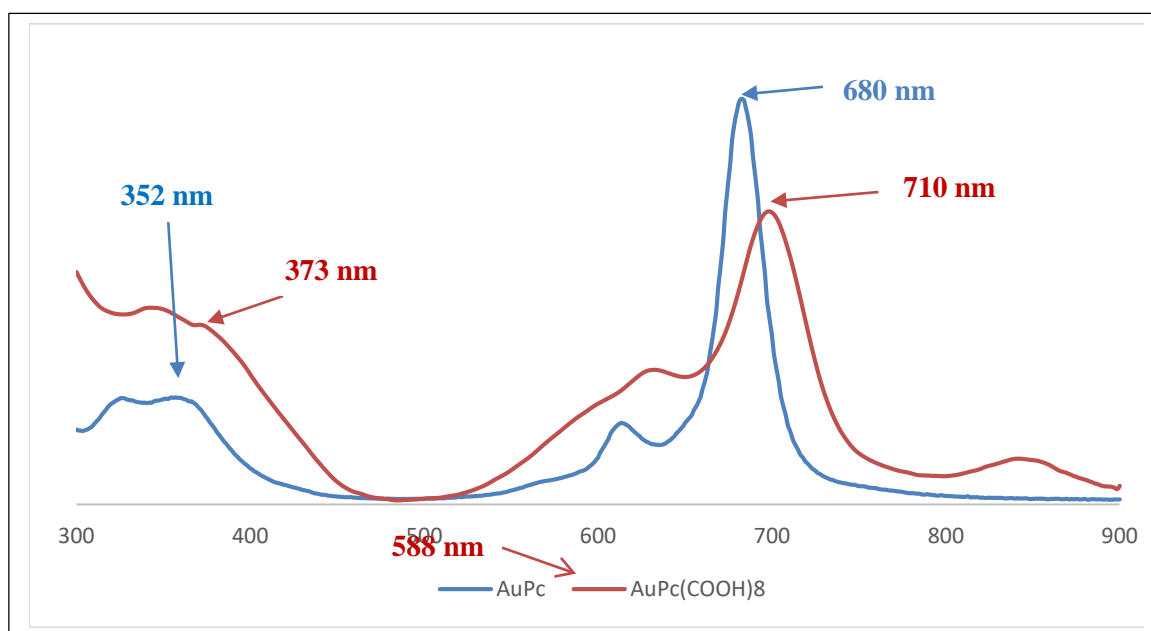


Figure 3 : spectres UV-visible de AuPc et de AuPc(CN)₈ dans le DMSO



➤ **Présentation des spectres obtenus à partir de solutions des composés dissous dans le DMF**
 D'une manière générale la substitution des hydrogènes périphériques entraîne un déplacement des deux bandes principales vers les grandes longueurs d'onde (figures 5 et 6). Les modifications observées sont très peu différentes de celles des spectres des composés dissous dans le DMSO (figure 3 et 4). Nous notons cependant une exaltation des bandes dans le spectre du complexe AuPc(CN)₈. Les longueurs d'onde des bandes relevées au maximum d'absorption sont regroupées dans le tableau 3.

Tableau 3 : maxima d'absorption (nm) des spectres UV-visible des solutions de AuPc, AuPc(CN)₈ et AuPc(COOH)₈ dans le DMF.

Composés	Maxima des bandes d'absorption (nm)				
	λ_B	λ_e	λ_e	λ_Q	$\lambda_d \rightarrow d$
AuPc	325 et 345	615	-	675	-
AuPc(CN) ₈	346 et 371	622	570	700	-
AuPc(COOH) ₈	373	640	585	713	832

e = épaulement

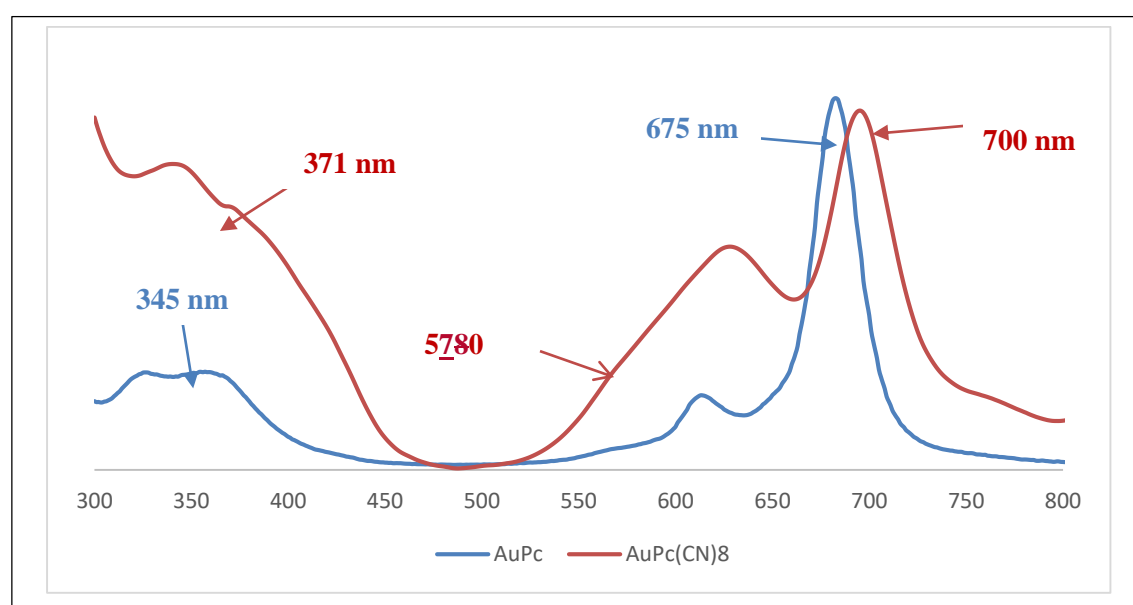


Figure 5 : spectres UV-visible de AuPc et de AuPc(CN)₈ dans le DM

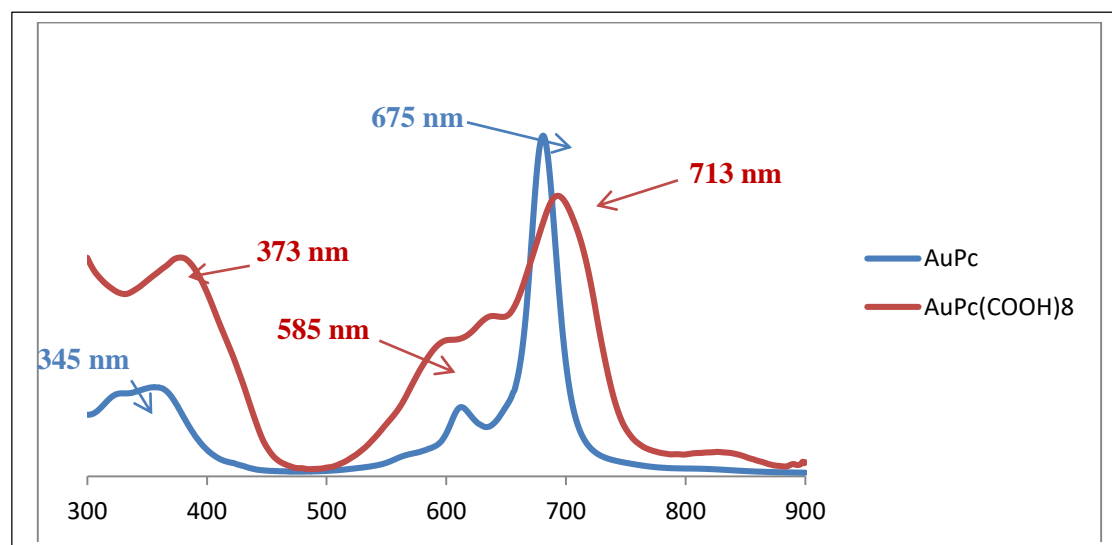


Figure 6 : spectres UV-visible de AuPc et de AuPc(COOH)₈ dans le DMF.

3.2.2. Discussion des résultats

Dans le spectre de AuPc les bandes principales sont déplacées vers les grandes longueurs d'onde comparativement à celles des MPc (FePc, CoPc, etc.). On observe également pour ce composé un effet du solvant sur ce déplacement bathochrome, il est plus marqué dans le DMSO. Ceci est conforme aux résultats de la littérature ^[5]; cela est certainement dû à la configuration électronique de la couche de valence du métal or.

L'élargissement des bandes plus marqué dans le spectre de AuPc(COOH)₈ (figures 4 et 6) pourrait s'expliquer par la formation d'agrégats en solution. On observe généralement ce phénomène dans une solution ayant une force ionique élevée ou une faible constante diélectrique ^[10, 11, 12] comme ceux que nous avons utilisés.

Dans les spectres des composés substitués à la périphérie, le déplacement des bandes vers les faibles énergies montre que les composés octasubstitués ont effectivement été obtenus. La bande de transition principale Q, qui met en jeu un transfert de charges des carbones pyrroliques vers les autres atomes du macrocycle est plus sensible aux modifications sur le macrocycle.

Le déplacement vers les grandes longueurs d'onde des bandes B et Q est un fait inattendu si l'on s'en tient uniquement à l'effet électroattracteur des groupements carboxyles (-COOH) et nitriles (-CN). On aurait dû observer un déplacement vers les courtes longueurs d'onde.

Le déplacement des bandes Q et B du complexe octacarboxylé vers les grandes longueurs d'onde est en accord avec les données de la littérature. DIACON et col. ^[13] ont montré que la bande Q subit un effet bathochrome d'environ 10 nm lorsqu'il y a quatre substituants -COOH à la périphérie. C. SAMBA-FOUALA ^[8] et plus tard M. BAYO-BANGOURA ^[9] ont observé un déplacement d'environ 30 nm de cette bande lorsque huit hydrogènes sont substitués par des groupements -COOH. Dans notre étude nous avons observé que cette bande est déplacée d'environ 30 nm. L'introduction des groupements acides carboxyliques à la périphérie modifie de façon notable les propriétés électroniques du macrocycle comme le montre nos résultats et ceux déjà obtenus avec d'autres MPc(COOH)₈. Les interactions inter et intramoléculaires dues à la présence des groupements acides carboxyliques se traduisent par un effet électrodonneur dominant ^[8, 14, 9, 13] entraînant un déplacement de l'ensemble des bandes vers les grandes longueurs d'ondes. Les interactions dipolaires et la formation de liaisons hydrogènes vont stabiliser la densité électronique autour du macrocycle, et affaiblir ainsi l'énergie nécessaire aux transitions électroniques, ce qui peut expliquer l'effet bathochrome. Les travaux récents de L. TARPAGA ^[15] sur une série de métallophthalocyanines ont montré que lorsque les groupements carboxyles sont remplacés par des groupements anhydrides, il se produit un effet hypsochrome dû à une atténuation des interactions OH des groupements acides carboxyliques. De plus en remplaçant les groupements anhydrides par les groupements amides, on observe un déplacement bathochrome de la bande Q qui passe de 683 nm à 690 nm. Tout ceci conforte l'hypothèse selon laquelle l'effet bathochrome s'expliquerait par la formation de liaisons hydrogène lorsque la phtalocyanine d'or octacarboxylée est en solution.

En comparant les spectres des complexes octacarboxylés de la série Fe, Co, Ni, Cu et Zn dans le DMSO et le DMF, L. TARPAGA ^[15] a montré que le déplacement des bandes Q et B vers les grandes longueurs d'onde augmente avec le numéro atomique dans l'ordre Fe-Co-Ni-Cu-Zn (d⁶ à d¹⁰). Dans le cas de notre travail en comparant le spectre de AuPc(COOH)₈ avec celui de la série ci-dessus, on remarque que le déplacement bathochrome des bandes Q et B est plus important. Ce qui confirme l'hypothèse selon laquelle le déplacement des bandes vers les grandes longueurs d'onde augmente avec le numéro atomique du métal central et les résultats obtenus avec AuPc.

Pour le complexe AuPc(CN)₈ l'effet bathochrome pourrait certainement s'expliquer par le fait qu'il se produit en solution des interactions entre les groupements nitriles, favorisant la formation d'agrégats de type J qui prennent le dessus, ceci influence l'effet électroattracteur des nitriles et déplacent les bandes vers les grandes longueurs d'onde ^[16].

La nouvelle bande observée entre 570 et 590 nm dans les spectres de AuPc(CN)₈ et AuPc(COOH)₈ (figures 3 à 6) est difficilement attribuable. Cependant elle pourrait s'expliquer par les fortes interactions entre les nitriles CN et les métaux de molécules voisines. Tout se passe comme si les CN venaient se

fixer sur le métal de la molécule voisine. Une étude réalisée dans notre laboratoire sur $\text{FePc}(\text{CN})_8$ a mis en évidence une bande semblable qui apparaissait vers 570 nm.

4. Conclusion

Ce travail a permis de préparer et d'isoler sous forme solide, le complexe AuPc et pour la première fois en adaptant les méthodes de la littérature, les complexes $\text{AuPc}(\text{CN})_8$ et $\text{AuPc}(\text{COOH})_8$. Les caractérisations spectroscopiques de ces complexes ont abouti à des résultats tous conformes à ceux de la littérature. Nous pouvons donc en conclure que nos composés sont des métallophthalocyanines. L'objectif final est d'utiliser ces complexes en photo-électrocatalyse pour la dégradation des polluants. Pour cela nous envisageons de pousser la caractérisation de nos complexes en ayant recourt à des techniques comme les caractérisations minéralogiques (DRX), l'analyse élémentaire CHNS-O, les caractérisations microstructurales (Microscopie Electronique à Balayage, EDX), les caractérisations chimiques (ICP), les caractérisations thermiques (Analyse thermique Différentielle, Analyse Thermogravimétrique) et une caractérisation géotechnique (Surface spécifique BET) des complexes synthétisés qui permettront de mieux cerner le comportement de nos matériaux ainsi formés.

5. Bibliographie

- [1]. Robertson J. M., Woodward I.; An X-ray study of the phthalocyanines Part III. Quantitative structure determination of nickel phthalocyanine; J. Chem. Soc.; (1937) 35, 219 p.
- [2]. Dent C. E., Linstead R. P., Lowe A. R.; Phthalocyanines Part VI. The structure of the phthalocyanines; J. Chem. Soc.; (1934) 10; 1033-1039.
- [3]. Hutchings G. J.; Vapor phase hydrochlorination of acetylene: Correlation of catalytic activity of supported metal chloride catalysts; J. Catal.; (1985) 96; 292 – 295.
- [4]. Haruta M., Kobayashi T., Sano H., Yamada N.; Novel Gold Catalysts for the Oxidation of Carbon Monoxide at a Temperature far Below 0 °C; Chem. Lett.; (1987) 16; 405 – 408.
- [5]. Ouemega B., Bayo-Bangoura M., Bayo K.; Préparation et étude de la phthalocyanine d'or; J. Soc. Ouest-Afr. Chim.; (2011) 31; 42-48.
- [6]. Ouédraogo G. V., Mossouy-Deneux M., Benlian D.; Données expérimentales sur la réaction de préparation de la ferrophthalocyanine sous forme β ; C. R. Acad. Sc. Paris, t.; (1978) 286; 517-520.
- [7]. Bayo K.; Préparation et étude physico-chimique de complexes mononucléaires et binucléaires de la phthalocyanine de cobalt et de zinc; Thèse de Doctorat d'Etat de l'Université de Ouagadougou; (2002), 162 p.
- [8]. Samba-Fouala C. C., Matériaux hybrides silice-phthalocyanine, silices-phosphate. Thèse de doctorat de l'université de Provence (Aix marseille I); (1998), 143 p.
- [9]. Bayo-Bangoura M.; Synthèse de molécules aromatiques permettant la formation d'assemblages moléculaires, auto-organisés, de dimensions nanométriques, parfaitement ordonnés sur des surfaces orientées: complexes de phthalocyanine et dérivés pérylènes. Thèse de Doctorat unique de l'Université de Ouagadougou ; (2012), 80 p.
- [10]. Samba-Fouala C. C.; Matériaux hybrides silice-phthalocyanine, silices-phosphate; Thèse de doctorat de l'université de Provence (Aix marseille I); (1998), 143 p.
- [11]. Nakamoto K.; Infrared and Raman spectra of Inorganic and coordination compounds; Wiley Interscience.; New-York, 2ndEd.; (1970); 206-211.
- [12]. Pan Y., Chen W., Lu S., Zhang Y.; Novel aqueous cobalt phthalocyanine; Dyes and Pigments.; (2005) 66; 115-121.
- [13]. Leznoff, C. C.; Lever, A. B. P., Phthalocyanines: Properties and Applications; Eds., VCH Publishers: New York, 1990 - 1996; Vol. 1-4.
- [14]. Sakamoto K., Ohno-okumura E.; Syntheses and functional properties of phthalocyanines; Materials.; (2009) 2; 1127-1179.
- [15]. Tarpaga L., Bayo-Bangoura M., Ouédraogo S., Bayo K.; Préparation et études vibrationnelle et électronique de complexes hexacoordinés de la phthalocyanine de fer octacarboxylée avec des ligands axiaux pyridine et pyridines substituées, phosphine et phosphites; Asian Journal of Science and Technology; (2018) Vol. 09, Issue, 05, pp.8185-8192.
- [16]. Kim S. J., Matsumoto M., Shigehara K.; Synthesis and electrical properties of one-dimensional octacyanometallophthalocyanine (M = Fe, Co) polymers; Journal of Porphyrins and Phthalocyanines; (2000) 4; 136-144.

Synthèse et étude cristallographique par DRX de Structures de Complexes Lanthanide(III) (Nd(III) et Sm(III)) obtenus avec un ligand Base de Schiff Tridentate, Activités Antioxydantes.

M. Thiam¹, M. N. Gueye¹, M. Dieng¹, I. E. Thiam¹, D. Lo¹, A. H. Barry², M. GAYE¹, P. Retailleau³

1 Université Cheikh Anta Diop, FST, Dakar, Sénégal.

2 Université de Nouakchott, Département de chimie, Mauritanie

3 Centre de Recherche de Gif, Institut de Chimie des Substances Naturelles, CNRS-UPR2301, 1 Avenue la Terrasse, 91198 Gif sur Yvette, France.

* thiammariama94@gmail.com

Résumé : Les bases de Schiff polydentates continuent à jouer un rôle important en chimie de coordination, elles sont largement employées grâce à la diversité de leurs méthodes de synthèse, leurs stabilités, leurs pouvoirs stabilisant de la plus part des ions métalliques ainsi que leurs solubilités dans la majorité des solvants. C'est ainsi que la base de Schiff tridente de type N4 a été synthétisée à partir de la réaction de condensation entre le 2- hydrazinopyridine et la pyridine-2-carbaldéhyde. Les complexes de Lanthanides (Néodyme et Samarium) ont été isolés lors de la réaction entre le sel de nitrate correspondant a été ajouté à la solution du ligand. Les composés isolés ont été caractérisés par l'analyse élémentaire, les spectroscopies IR et UV, les mesures magnétiques à température ambiante et la diffraction des rayons-X sur monocristal. Les activités antioxydantes du ligand et de ses complexes Ln(III) ont été étudiées par la méthode de balayage au DPPH.

Mots Clés : Hydrazino ; complexes ; lanthanides ; antioxydant.

Lanthanide(III) Complexes with Tridentate Schiff Base Ligand, Antioxidant Activity and X-Ray Crystal Structures of the Nd(III) and Sm(III) Complexes Abstract.

Polydentate Schiff bases continue to play an important role in coordination chemistry, they are widely used due to the diversity of their synthesis methods, their stabilities, their stabilizing powers of most metal ions as well as their solubility in most solvents. Thus the tridentate N4-type Schiff base was synthesized from the condensation reaction of 2-hydrazinopyridine and pyridine-2-carbaldehyde. Neodymium and Samarium complexes were isolated when the corresponding nitrate salt was added to the solution of the ligand. The isolated compounds were characterized by elemental analyses, IR study, room temperature magnetic measurements and single X-ray crystal diffraction of the two crystals. The DPPH radical scavenging effects of the Schiff base ligand and its Ln(III) complexes were screened.

Keywords: Hydrazino; complexes; Lanthanide; antioxidant.

1. Introduction

Au cours de la dernière décennie, la chimie de coordination des lanthanides a été l'un des domaines de recherche les plus ciblés. Leurs structures intrigantes et leurs utilisations potentielles comme outils de diagnostic en biologie, la catalyse, la luminescence et le magnétisme renforcent l'intérêt des chimistes pour ces domaines de recherche.

Les hydrazones sont des précurseurs de base de Schiff avec une connexion triatomique de la fraction - C = N-NH-. Elles sont largement utilisées dans la synthèse de complexes pour générer des structures originales. Les composés de coordination issus de ce type de ligand ont une variété d'applications. De nombreux résultats concernant leurs activités biologiques ont été décrits dans la littérature.

Ce rapport présente la synthèse, la caractérisation et l'activité antioxydante des complexes de néodyme(III) et de samarium(III) dérivés de 1-(pyridin-2yl)-2-(pyridine-2-ylméthylène)hydrazine (HL).

2. Matériel et méthodes

La 2-Hydrazinopyridine, le 2-pyridinecarbaldéhyde et les sels de nitrate de lanthanide étaient des produits commerciaux (d'Alfaet Aldrich) et ont été utilisés sans autre purification. Les solvants étaient de qualité réactive et ont été purifiés par les méthodes habituelles. Les technique de caractérisation

utilisés sont l'infrarouge, la RMN ^1H , RMN ^{13}C , la conductimètre, le magnétisme et la diffraction des rayons X.

Synthèse du ligand HL et des complexes

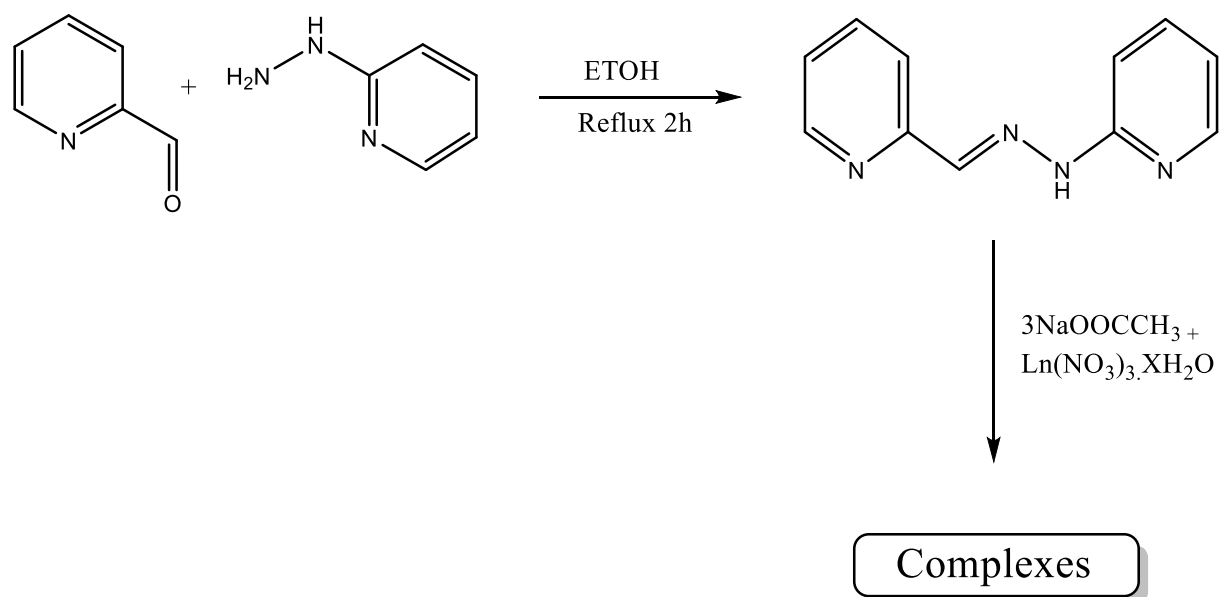


Schéma 1 : Synthèse du ligand HL et des complexes.

Mode opératoire :

Dans un ballon de 100 mL, introduire 0,5 g (4,67 mmol) de pyridine – 2 – carbaldéhyde avec 0,51 g (4,67 mmol) d'hydrazinopyridine dissout préalablement dans environ 10 mL d'éthanol. On obtient un mélange de couleur jaune claire. Le mélange est porté au reflux pendant 2H. Après refroidissement, on obtient une solution limpide jaune qui est complétée à 100 mL dans une fiole.

Dans un ballon de 100 mL, on introduit 10 mL de la solution du ligand HL. On y ajoute 3 mmol d'acétate de sodium préalablement dissout dans 5 mL d'éthanol sous agitation. Après 10 mn d'agitation, on ajoute 1 mmol de nitrate de lanthanide Ln(NO₃)₃ .6H₂O (Ln = Nd, Sm) dissout dans 10 mL d'éthanol. La solution jaune obtenue après 30 min d'agitation à température ambiante est filtrée puis laissée en évaporation lente. Trois jours après, des monocristaux colorés sont récupérés.

3. Résultats et discussion

3.1. Etude RMN ^1H et ^{13}C du ligand N, N'-1,5-bis (pyridylméthylidène)carbonohydrazone H₂L

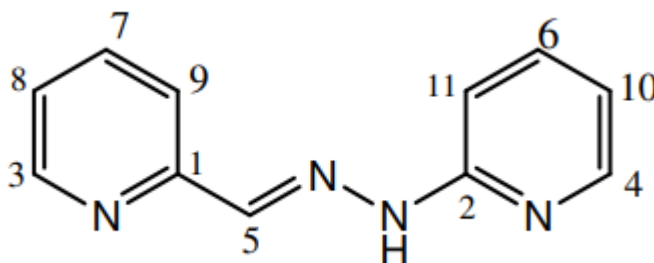


Schéma 2 : Structure du ligand HL

Le spectre de RMN ^1H du ligand HL révèle un signal sous forme singulet intégrant 1H à 8,14 ppm, attribué au proton iminique. Il révèle également un signal à 11,18 ppm sous forme de singulet intégrant 1H correspondant au proton HN–N. La présence de ces signaux montre que la réaction de condensation entre les deux réactifs a bien eu lieu.

Le spectre ^{13}C montre 11 signaux correspondant aux 11 atomes de carbone. Les carbones quaternaires C1 et C2 sortent du même côté respectivement à 156,660 et 154,257 ppm. Les atomes de carbone C3, C4, C5, C6, C7, C8, C9, C10 et C11 sortent aussi du même côté respectivement à 149,18; 147,798; 139,164; 137,989; 136,422; 122,878; 118,810; 115,528 et à 106,500 ppm.



Figure 4 : Spectre RMN ^{13}C du ligand HL

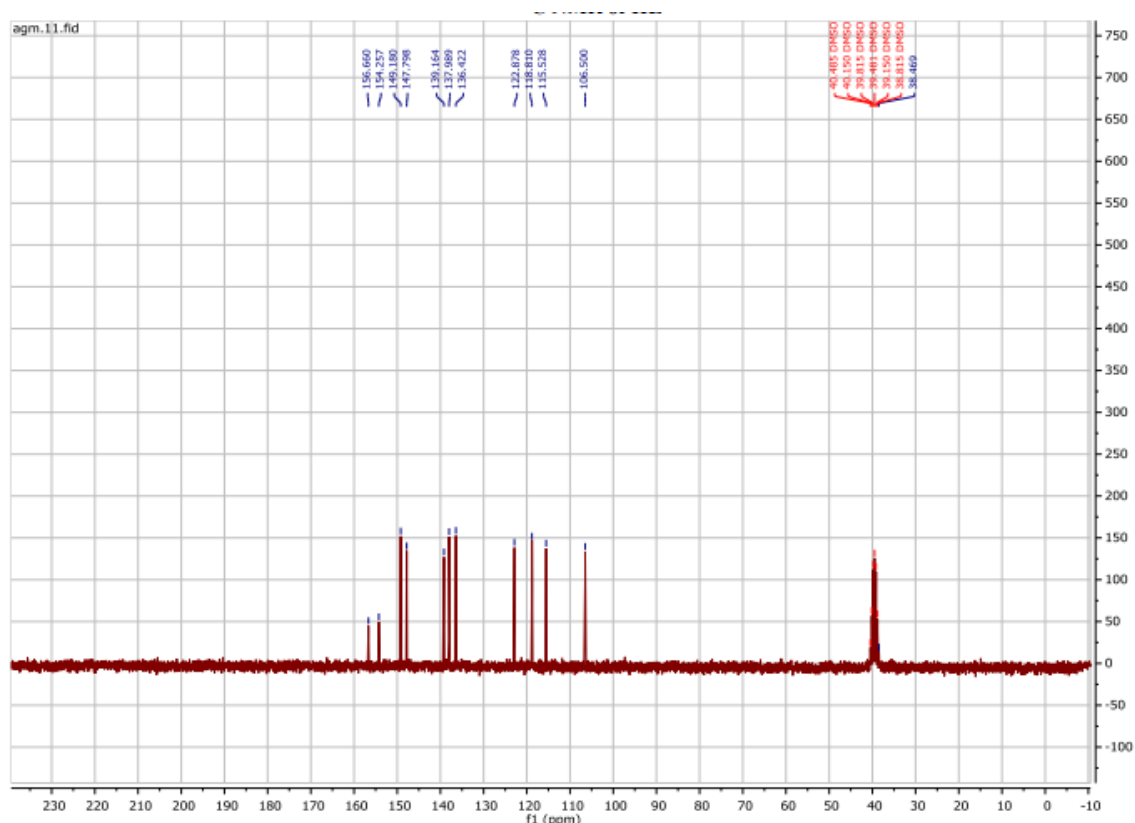


Figure 5 : Spectre RMN ^{13}C du ligand HL

3.2. Etude infrarouge et cristallographique des complexes

Les données infrarouges du ligand et des complexes sont consignées dans le tableau ci-dessous.

Tableau : Données infrarouge du ligand et des complexes

composés	$\nu(\text{C}=\text{N})$ imine	$\nu(\text{C}=\text{N})$ pyridine	$\nu(\text{NH})$	$\nu(\text{H}_2\text{O})$	$\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$	$\nu_{\text{s}}(\text{COO}^-)$	$\Delta\nu$	$\nu(\text{NO}_3^-)$
HL	1635	1569	3204	-	-	-	-	-
$[\text{Nd}(\text{HL})(\text{OAc})_2(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot 2(\text{NO}_3)_2$	1577	1560	3203	3222	1555	1448	107	1370
$[\text{Sm}(\text{HL})(\text{OAc})_2(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot 2(\text{NO}_3)_2$	1581	1560	3202	3225	1565	1450	115	1368

En comparant les données infrarouges des complexes et celles du ligand HL, nous remarquons le déplacement vers les basses fréquences des bandes de vibration $\nu(\text{C}=\text{N})$ de la fonction imine et $\nu(\text{C}=\text{N})$ du noyau pyridine. Ce déplacement est une preuve de la participation des atomes d'azote de la fonction imine et des noyaux pyridines du ligand lors de la coordination de l'ion $\text{Ln}(\text{III})$. Outre ces bandes de vibrations du ligand, nous observons de nouvelles bandes attribuées au groupe acétate et nitrate.

L'analyse cristallographique sur monocristaux des complexes montre qu'ils sont iso structuraux et cristallisent dans un système monoclinique avec le groupe d'espace $\text{P}2_{1/c}$. Les paramètres de la maille élémentaire sont : $a = 11,0927 \text{ \AA}$, $b = 17,9926 \text{ \AA}$, $c = 11,9395 \text{ \AA}$; $\beta = 115,27^\circ$, $\gamma = 90,00^\circ$ pour le complexe de Nd ; $a = 11,0477 \text{ \AA}$, $b = 17,925 \text{ \AA}$, $c = 11,9149 \text{ \AA}$; $\beta = 115,489^\circ$, de Sm.

Dans chaque complexe, chacun des deux ions Ln^{3+} a une coordinance neuf. L'atome de lanthanide est coordonné par un atome d'azote azométhine, deux atomes d'azote de pyridine à partir du ligand HL, deux atomes d'oxygène d'un groupe acétate bidentate chélatant, deux atomes d'oxygène issus de deux

groupes acétates bidentates pontant et deux atomes d'oxygène de molécules d'eau coordinées donnant ainsi une géométrie de type prisme trigonal tri coiffé.

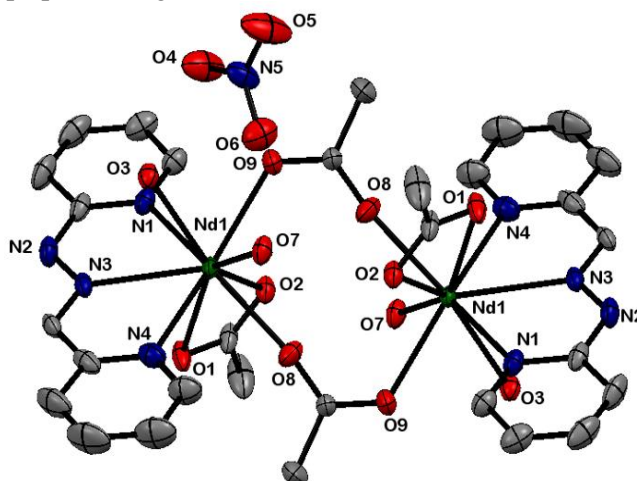


Figure 3 : Structure cristalline du complexe de Nd

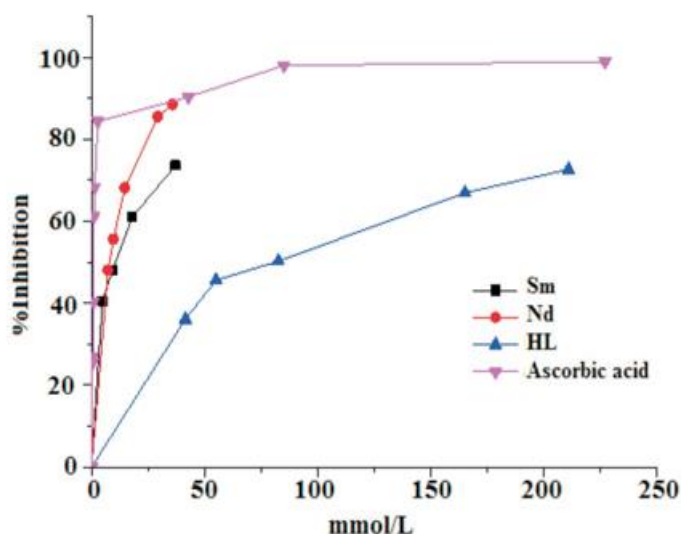
3.3. Etude de l'activité antioxydante des composés

Pour évaluer l'activité antioxydante des composés organiques ou inorganiques, la méthode de balayage DPPH• est largement utilisée dans la littérature. L'effet antioxydant du DPPH• est dû à son aptitude à accepter un atome d'hydrogène. Le DPPH• est un radical libre instable et accepte un électron ou un radical hydrogène pour devenir une molécule stable. Les essais ont été effectués en triplicata. L'acide ascorbique, qui est un composé antioxydant naturel bien connu, a été utilisé comme témoin positif. Les activités antioxydantes du ligand HL et de ses complexes ont été étudiées de manière approfondie. L'activité est définie par l'indice de la réduction de l'activité antiradicalaire en pourcentage I%

$$I\% = \frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{contrôle}}} \times 100$$

déterminé par la relation suivante :

Les courbes des pourcentages d'activités antioxydantes des composés sont tracées en fonction de la concentration de l'échantillon contre le pourcentage de l'inhibition. Nous avons, par la suite, déterminé les valeurs d'IC50 graphiquement.



On observe que l'activité de piégeage augmente avec la concentration du complexe de lanthanide dans la gamme testée.

Les valeurs de l'IC₅₀ (μM): 0,980 ± 0,005 pour l'acide ascorbique, 8,01 ± 0,02 pour Nd, 10,65 ± 0,01 pour Sm et 82,38 ± 0,01 pour HL, montrent que les complexes ont une activité de piégeage supérieure à celle du ligand. Ces résultats impliquent que l'acide ascorbique a une meilleure capacité à piéger le DPPH.

3. Conclusion

Un ligand tridenté a été synthétisé et a réagi avec du nitrate de lanthanide et de l'acétate de sodium pour donner des complexes binucléaires de Nd et de Sm. Les méthodes d'analyses spectroscopiques, la conductimétrie et les mesures de susceptibilité magnétique nous ont permis de caractériser les complexes. Leurs structures ont été déterminées par la diffraction des rayons X. L'étude de l'activité antioxydante du ligand et des complexes a montré que les complexes ont une activité supérieure à celle du ligand.

5. Bibliographie :

- 1 S. Procházková, J. Hraníek, V. Kubíek and P. Hermann, Formation kinetics of europium(III) complexes of DOTA and its bis(phosphonate) bearing analogs. *Polyhedron*, 2016, 111, 143–1
- 2 Z.-Q. Xu, X.-J. Mao, L. Jia, J. Xu, T.-F. Zhu, H.-X. Cai, H.-Y. Bie, R.-H. Chen and T.-L. Ma, Synthesis, characterization and anticancer activities of two lanthanide(III) complexes with a nicotino-hydrazone ligand. *J. Mol. Struct.*, 2015, 1102, 86–90.
- 3 X. Yang, R.A. Jones and S. Huang, Luminescent 4f and d-4f polynuclear complexes and coordination polymers with flexible salentype ligands. *Coord. Chem. Rev.*, 2014, 273–274, 63–75.
- 4 S.-D. Han, X.-H. Miao, S.-J. Liu and X.-H. Bu, Magnetocaloric effect and slow magnetic relaxation in two dense (3,12)-connected lanthanide complexes. *Inorg. Chem. Front.*, 2014, 1, 549–552.
- 5 R.W. Wen, S.D. Han, G.J. Ren, Z. Chang, Y.W. Li and X.H. Bu, A flexible zwitterion ligand based lanthanide metal–organic framework for luminescence sensing of metal ions and small molecules. *Dalton Trans.*, 2015, 44, 10914–10917.
- 6 D. Tian, Y. Li, R.Y. Chen, Z. Chang, G.Y. Wang and X.H. Bu, A luminescent metal–organic framework demonstrating ideal detection ability for nitroaromatic explosives. *J. Mater. Chem. A*, 2014, 2, 1465–1470.
- 7 H. Zhou, Y. Jiang, M. Chen, Y. Wang, Y. Yao, B. Wu and D. Cui, Synthesis and characterization of lanthanide amides bearing phenoxy(quinolinyl)amide ligand and their application in the ring-opening polymerization of 1,4-dioxan-2-one. *J. Organomet. Chem.*, 2014, 763–764, 52–59
- 8 M.G. Lahoud, R.C.G. Frem, D.A. Gálico, G. Bannach, M.M. Nolasco, R.A.S. Ferreira and L.D. Carlos, Intriguing light-emission features of ketoprofen-based Eu(III) adduct due to a strong electron–phonon coupling. *J. Lumin.*, 2016, 170, 357–363.
- 9 B. Cristóvão and Z. Hnatejko, Lanthanide(III) compounds with the N₂O₄-donor Schiff base. Synthesis, spectral, thermal, magnetic and luminescence properties. *J. Mol. Struct.*, 2015, 1088, 50–55.
- 10 (a) F.B. Tamboura, P.M. Haba, M. Gaye, A.S. Sall, A.H. Barry and T. Jouini, Structural studies of bis-(2,6-diacetylpyridine-bis-(phenylhydrazone)) and X-ray structure of its Y(III), Pr(III), Sm(III) and Er(III) complex. *Polyhedron*, 2004, 23, 1191–1197. (b) P.M. Haba, F.B. Tamboura, O. Diouf, M. Gaye, A.S. Sall, C.A. Baldé and C. Sleboznick, Preparation, spectroscopic studies and X-ray structure of homobinuclear lanthanide(III) complexes derived from 2,6-diformyl-4-chlorophénol-bis-(2'-hydroxy-benzoylhydrazone). *Bull. Chem. Soc. Ethiop.*, 2006, 20, 45–54.

Synthèse, études spectroscopiques et diffraction des rayons X des complexes heptacoordinés de Mn(II) et de Co(II) heptacoordinés avec des ligands dérivés du Carbonohydrasid

Dame GADIAGA ^{1*}, Adama SY ², Thiérno.M.SECK ³

1 Université Gaston Berger, SAT, Saint Louis, Sénégal.

2 Université Gaston Berger, SAT, Saint Louis, Sénégal.

3 Université Cheikh Anta DIOP, FST, Dakar, Sénégal.

*damegadiaga@gmail.com

Résumé : Les composés de coordination des métaux de transition avec les bases de Schiff continuent d'attirer l'attention des chercheurs en raison de la facilité de synthèse, de la stabilité des structures moléculaires et de la grande diversité des propriétés observées dans divers domaines tels que le magnétisme moléculaire [1], la catalyse, l'optique et la biologie [2]. Parmi eux on peut citer les complexes de zinc qui présentent des propriétés biologique et luminescente.

Dans ce document nous allons vous proposer la synthèse et la caractérisation des ligands 1-(1-(pyridin-2-yl)éthylidène) carbonohydrasid (H4L1) et 1-(pyridin-2-ylméthylène) carbonohydrasid (H4L2) ainsi que celle de leurs complexes dinucléaire [Mn₂(H4L1)₂(H₂O)₄] · Cl₄, 1) et mononucléaire [Co(H4L2) (NO₃)₂(H₂O)₂] · (NO₃) ; 2) et leurs structures ont été déterminées par la technique de diffraction de rayons X simples.

Mots Clés : métaux, ligand, arbonohydrasid, complexe.

Synthesis, Spectroscopic Studies and X-Ray Diffraction of Heptacoordinated Mn(II) and Co(II) Complexes with Ligands Derived from Carbonohydrasid

Abstract Transition metal coordination compounds with Schiff bases continue to attract the attention of researchers due to the ease of synthesis, stability of molecular structures and the wide range of properties observed in various fields such as molecular magnetism [1], catalysis, optics and biology [2]. Among them we can mention the zinc complexes which present biological and luminescent properties.

In this paper we will propose the synthesis and characterization of the ligands 1-(1-(pyridin-2-yl) ethylidene) carbonohydrasid (H4L1) and 1-(pyridin-2-ylmethylene) carbonohydrasid (H4L2) as well as that of their dinuclear [Mn₂(H4L1)₂(H₂O)₄] · Cl₄ complexes, 1) and mononuclear [Co(H4L2) (NO₃)₂(H₂O)₂] · (NO₃) ; 2) and their structures were determined by the single X-ray diffraction technique.

Keywords: metals, ligand, arbonohydrasid, complex.

1-Introduction

Les composés de coordination des métaux de transition avec les bases de Schiff continuent d'attirer l'attention des chercheurs en raison de la facilité de synthèse, de la stabilité des structures moléculaires et de la grande diversité des propriétés observées dans divers domaines tels que le magnétisme moléculaire [1], la catalyse, l'optique et la biologie [2]. Parmi eux on peut citer les complexes de zinc qui présentent des propriétés biologique et luminescente

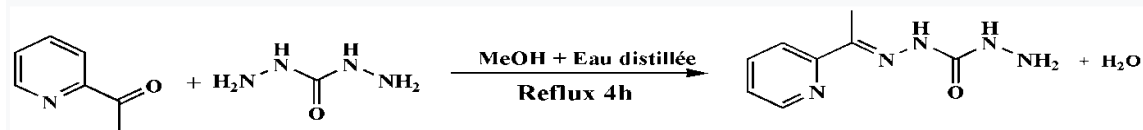
Dans un premier temps nous allons vous présenter la synthèse des ligands et des complexes, en suite l'étude et la caractérisation de ces derniers et en fin terminer avec une conclusion afin de dégager des perspectives.

2-Matériel et méthodes

Carbonohydrasid (98%), 2-acétylpyridine (99%), 2-pyridinecarboxaldéhyde (99%), MnCl₂·4H₂O (99%), Co(NO₃)₂·6H₂O (99,99%) et méthanol de qualité analytique ont été fournis par Aldrich.

Tous les produits chimiques et solvants ont été utilisés directement sans autre purification.

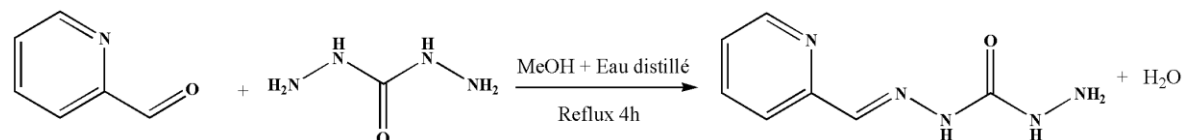
2-1-Synthèse du ligand 1-(1'-pyridylméthylidène) carbonohydrizide (**H₄L₁**)



Mode opératoire :

On dissout dans un ballon contenant un mélange de 20 mL de méthanol et 10 mL d'eau distillée 3 g (0,0333 mol) de carbonohydrizide. On y ajoute goutte à goutte toute la solution de méthanol contenant 4 g (0,0330 mmol) d'acétylpyridine (la durée de l'ajout est environ d'une demie journée). On a maintenu le mélange à reflux pendant quatre heures. On observe l'apparition d'un précipité blanc. Ce précipité est filtré à chaud, lavé avec du méthanol à chaud (2 x 10 mL) puis séché sous P2O₅.

2-2-Synthèse du ligand 1-(pyridylméthylidène) carbonohydrizide (**H₄L₂**)



Mode opératoire :

Dans un ballon de 100 mL contenant 15 mL de méthanol, on introduit 1 g (0,011 mol) de carbonohydrizide. On chauffe pendant 30 mn. On obtient une suspension blanche qui disparaît après ajout de 5 mL d'eau distillée. On y ajoute goutte à goutte toute la solution de méthanol contenant 1,1921 g (0,011 mol) de 2-pyridinecarbaldéhyde. Le mélange est maintenu à reflux pendant quatre heures. On obtient une solution orange. Elle précipite après refroidissement au réfrigérateur. Le précipité est récupéré par filtration, lavé avec méthanol à froid puis avec de l'éther diéthylique avant d'être séché sous P2O₅.

2-3-Synthèse du complexe de Mn avec le ligand **H₄L₁**

Introduire dans un ballon de 100 mL contenant 10 mL de méthanol, 193 mg (1 mmol) du ligand **H₄L₁**. On obtient une suspension dans laquelle on ajoute 5 mL d'une solution de méthanol contenant 1 mmol du sel de chlorure métallique. Le mélange est agité à la température ambiante pendant une heure. On obtient une suspension. La suspension obtenue est filtrée et le filtrat est laissé en évaporation lente. La poudre récupérée pour la suspension est de faible quantité. Elle est recristallisée dans du DMF.

2-4-Synthèse du complexe de cobalt avec le ligand **H₄L₂**

Dans un ballon contenant 10 mL de méthanol, on introduit 179 mg (1 mmol) du ligand **H₄L₂**. Après 30 minutes d'agitation, 5 mL d'une solution de méthanol contenant 1 mmol du sel de métal de transition sont ajoutés. Le mélange est maintenu sous agitation à la température ambiante pendant une heure. La solution obtenue est filtrée et le filtrat est laissé en évaporation lente.

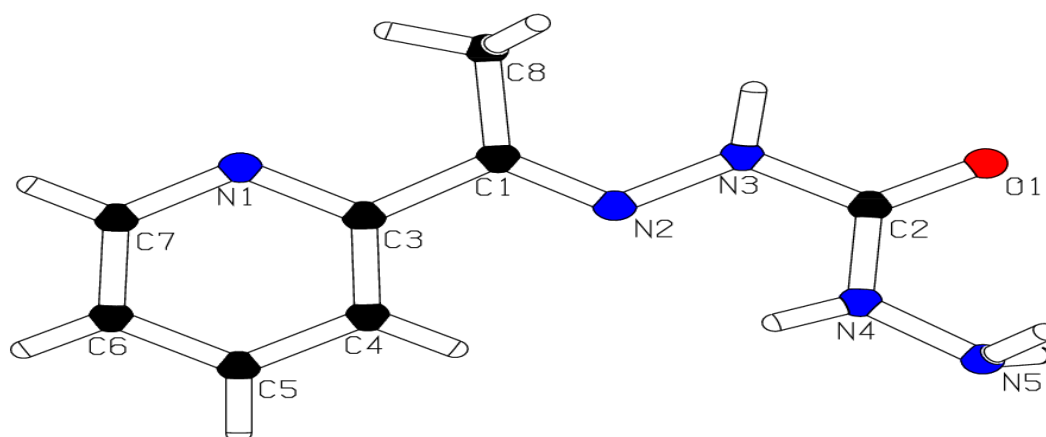
3-Résultats et discussion

3-1-Etude structurale du ligand **H₄L₁**

Notre ligand a été étudié par différentes méthodes pour déterminer sa structure ici on vous propose l'étude par diffraction aux rayons x du ligand.

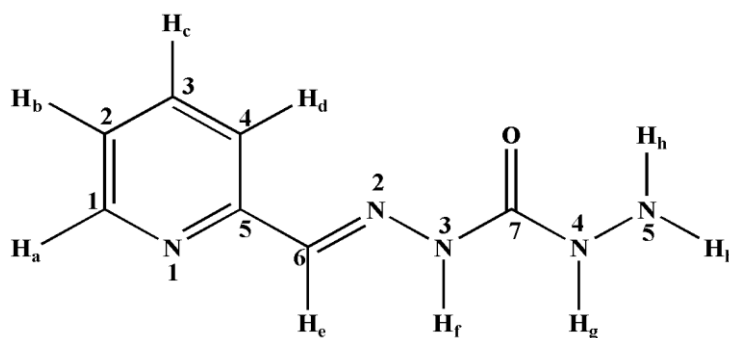
3-1-1-Etude cristallographique du ligand H₄L₁

L'étude de la diffraction aux rayons X montre que le ligand **H₄L₁** cristallise dans le système monoclinique avec le groupe d'espace P21/C. Les paramètres de la maille élémentaire sont : $a = 8,9329(5) \text{ \AA}$, $b = 9,8728(4) \text{ \AA}$, $c = 10,5538(7) \text{ \AA}$, et $\beta = 94,155^\circ$. Les longueurs de liaison et les angles de liaison sélectionnés sont répertoriés dans les tableaux 14 et 15. Les liaisons C1-N2 = 1,270 Å et C2-O1 = 1,231 Å ont des longueurs caractéristiques de double liaison tandis que les liaisons C2-N4 = 1,339 Å et C2-N3 = 1,374 Å sont simples. Ces résultats confirment la forme amide du ligand à l'état solide. L'étude de la structure cristalline du ligand **H₄LC** montre aussi que l'atome d'oxygène du groupement carbonyle O1 et l'atome d'azote du groupement amine N5 sont en position cis par rapport à la liaison C2-N4. Cette même configuration est observée pour les atomes N2 et N4 par rapport à C2-N3. Autour de la liaison N2-N3 nous avons une configuration S-trans. Ces différentes configurations sont fréquemment rencontrées dans les dérivés carbonohydrzides.

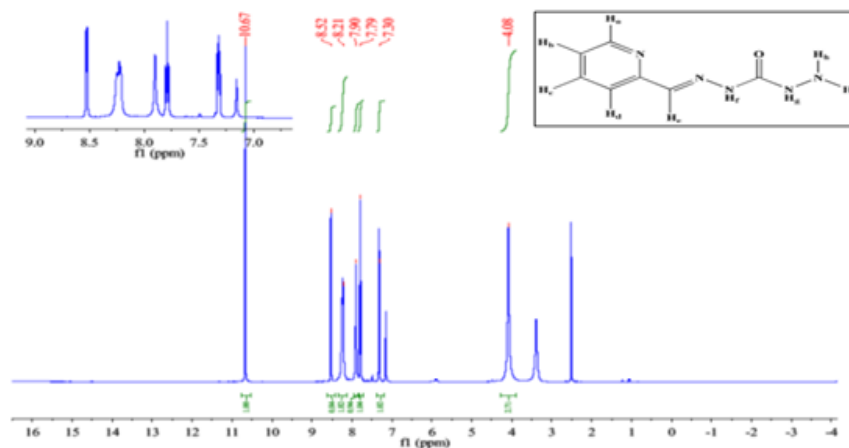


Structure cristalline du ligand H₄L₁

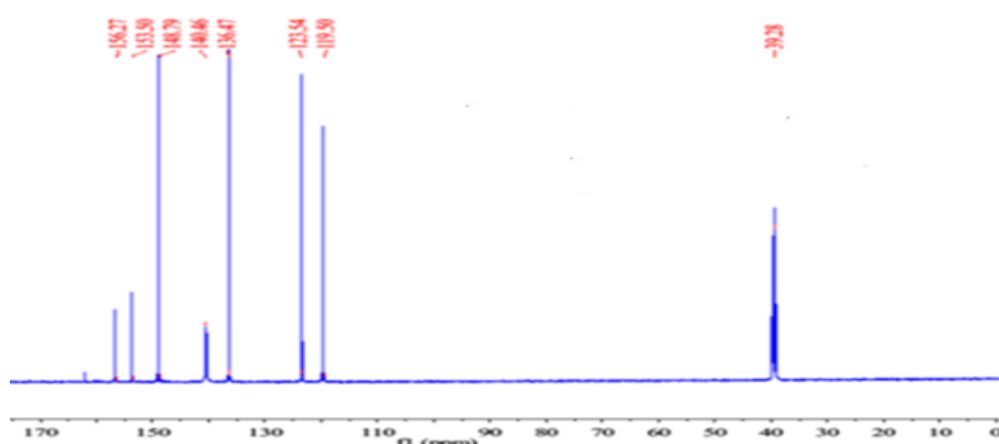
3-2-Etude structurale du ligand H₄L₂



Structure du ligand H₄L₂



Spectre RMN ¹H du ligand H₄L₂



Spectre RMN ¹³C du ligand H₄L₂

Attribution des signaux des spectres RMN ¹H et ¹³C du ligand H₄L₂

δ ¹ H en ppm	Multiplicité	Intégral	Attributions	δ ¹³ C en ppm	Attributions
4,08	s	2	H _h	119,50	C-4
7,30	Dd	1	H _b	123,54	C-2
7,79	D	1	H _d	136,47	C-3
7,90	Dd	1	H _c	140,46	C-6
8,21	s	1	H _e	148,79	C-1
8,21	s	1	H _g	153,50	C-5
8,51	s	1	H _a	156,27	C-8
10,67	s	1	H _f		

3-3-Etude structurale du complexe de Mn avec le ligand H₄L₁

Notre complexe a été étudié par différentes méthodes pour déterminer sa structure ici on vous propose l'étude par diffraction aux rayons x du ligand.

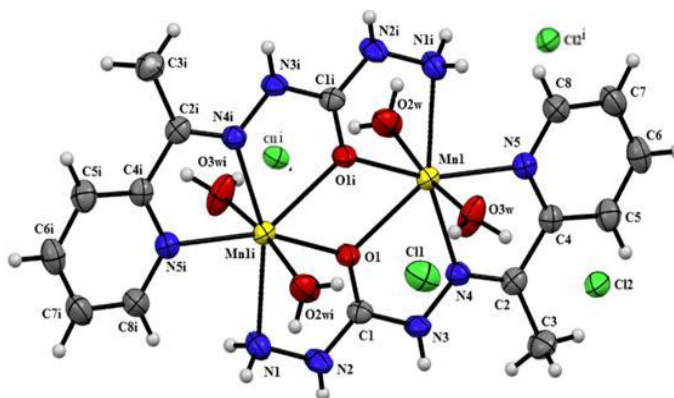
3-3-1-Etude par diffraction des rayons X du complexe [Mn₂(H₄L₁)₂(H₂O)₄] Cl₄

L'étude cristallographique du complexe $[\text{Mn}_2(\text{H}_4\text{L}_1)_2(\text{H}_2\text{O})_4] \text{Cl}_4$ révèle qu'il cristallise dans le système triclinique avec un groupe d'espace P-1. Les paramètres de la maille élémentaire sont $a = 8,7932(2) \text{ \AA}$; $b = 9,1070(2) \text{ \AA}$; $c = 9,9348(7) \text{ \AA}$; $\alpha = 75,460(2)^\circ$; $\beta = 67,174(2)^\circ$; $\gamma = 81,729(2)^\circ$.

Données cristallographiques et paramètres d'affinement du complexe $[\text{Mn}_2(\text{H}_4\text{L}_1)_2(\text{H}_2\text{O})_4] \text{Cl}_4$

Formule brute	$\text{C}_{16}\text{H}_{30}\text{Cl}_4\text{Mn}_2\text{N}_{10}\text{O}_6$
Masse molaire (g mol^{-1})	710,18
Radiation (Mo $K\alpha$) λ (\AA)	0,71073
Température (K)	293(2)
Dimension du cristal (mm^3)	0,40 x 0,30 x 0,15
Système cristallin	Triclinique
Groupe d'espace	P-1
a, b, c (\AA)	8,7932(2) ; 9,1070(2) ; 9,9348(3)
α, β, γ ($^\circ$)	75,460(2) ; 67,174(2) ; 81,729(2)
Volume (\AA^3)	708,83(3)
Z	1
ρ_{calc} (Mg m^{-3})	1,664
Coefficient d'absorption (mm^{-1})	1,318
F(000)	362,0
Angle θ pour la collecte	7,884 à 58,6
Indices h, k, l	$-12 \leq h \leq 10, -12 \leq k \leq 12, -13 \leq l \leq 12$
Nombre de réflexions collectées	15348
Nombre de réflexions Indépendant	3394
R_{int}	0,0484
$T_{\text{min}}, T_{\text{max}}$	0,574 ; 1,000
Données/restriction/paramètres	3394/5/192
GOF	1,073
Indices finaux R [$I > 2\sigma(I)$]	$R_1 = 0,0262, wR_2 = 0,0676$
Indices R (pour toutes données)	$R_1 = 0,0297, wR_2 = 0,0691$
$\Delta\rho_{\text{max}}, \Delta\rho_{\text{min}}$ (e \AA^{-3}) / e \AA^{-3}	0,28 ; -0,28

L'unité asymétrique du complexe $[\text{Mn}_2(\text{H}_4\text{L}_1)_2(\text{H}_2\text{O})_4] \text{Cl}_4$ est composée de deux ions de manganèse (II), deux molécules du ligand, quatre molécules d'eau coordinantes et quatre ions chlorure. Chaque ligand tétradentate se lie aux ions métalliques par le biais de l'atome d'oxygène du groupement carbonyle et des trois atomes d'azote provenant de la pyridine, des fonctions imine et amine. Les ions métalliques Mn(II) sont situés dans le même site de coordination N3O4 avec un environnement bipyramidal pentagonal. Les deux ions manganèse (II) sont reliés par des ponts μ -oxo.



Structure cristalline du complexe $[\text{Mn}_2(\text{H}_4\text{L}_1)_2(\text{H}_2\text{O})_4] \text{Cl}_4$

3-4-Etude du complexe de cobalt avec le ligand H_4L_2

Notre complexe a été étudié par différentes méthodes pour déterminer sa structure ici on vous propose l'étude par diffraction aux rayons x du ligand.

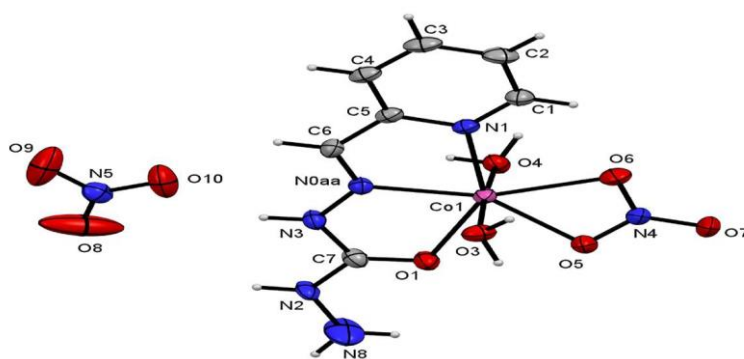
3-4-1-Etude cristallographique du complexe $[\text{Co}(\text{H}_4\text{L}_2) (\text{H}_2\text{O})_2(\text{NO}_3)] \cdot \text{NO}_3$

Le composé $[\text{Co}(\text{H}_4\text{L}_2) (\text{H}_2\text{O})_2(\text{NO}_3)] \cdot \text{NO}_3$ cristallise dans le système triclinique avec un groupe d'espace P-1. Les paramètres de la maille élémentaire sont : $a = 8,4248(2) \text{ \AA}$; $b = 8,7674(2) \text{ \AA}$; $c = 10,6885(2) (\text{ \AA})$; $\alpha = 82,151(2)^\circ$; $\beta = 86,273(2)^\circ$; $\gamma = 81,732(2)^\circ$.

Données cristallographiques et paramètres d'affinement du complexe $[\text{Co}(\text{H}_4\text{L}_2) (\text{H}_2\text{O})_2(\text{NO}_3)] \cdot (\text{NO}_3)$

Formule brute	$\text{C}_8\text{H}_{13}\text{CoN}_5\text{O}_{10}$
Masse molaire (g \ mol)	398,16
Radiation (Mo K α) λ (Å)	0,71073
Température (K)	293,0
Forme, Couleur	Prisme, Orange
Dimension du cristal (mm)	0,34 x 0,22 x 0,1
Système cristallin	Triclinique
Groupe d'espace	P-1
a ; b ; c (Å)	8,4248(2) ; 8,7674(2) ; 10,6885(2)
α ; β ; γ (°)	82,151(2) ; 86,273(2) ; 81,732(2)
Volume (Å ³)	773,14(3)
Z	2
ρ_{calc} (Mg m ⁻³)	1,7102
Coefficient d'absorption (mm ⁻¹)	1,171
F(000)	406,9
Angle θ pour la collecte	3,04 à 28,6
Indices h, k, l	$-10 \leq h \leq 10$, $-11 \leq k \leq 11$, $-14 \leq l \leq 14$
Nombre de réflexions collectées	29332
Nombre de réflexions Indépendant	3611
R_{int}	0,0274
T_{min} , T_{max}	0,763 ; 1,000
Données/restriction/paramètres	3611/0/219
GOF	1,070
Indices finaux R [$I > 2\sigma(I)$]	$R_1 = 0,0452$, $wR_2 = 0,1264$
Indices R (pour toutes données)	$R_1 = 0,0493$, $wR_2 = 0,1300$

La maille cristalline du complexe contient deux unités asymétriques ($Z = 2$). Chaque unité asymétrique est composée d'un ion de cobalt (II), d'une molécule du ligand, d'un ion nitrate bidentate chélatant, de deux molécules d'eau coordinantes et d'un ion nitrate libre. Le ligand est tridentate avec comme atomes donneurs l'atome d'oxygène du groupement carbonyle et les atomes d'azotes de la fonction imine et du noyau pyridine. L'ion de cobalt (II) est logé dans un site de coordination $\text{N}2\text{O}_5$ avec un environnement bipyramide pentagonal.



Structure cristalline du complexe $[\text{Co}(\text{H}_4\text{L}_2) (\text{H}_2\text{O})_2(\text{NO}_3)] \cdot \text{NO}_3$

4-Conclusion

Dans ce travail, nous avons étudié la synthèse et la caractérisation du ligand H_4L_1 et H_4L_2 , ces derniers nous ont permis de faire la synthèse et l'étude du complexe de Mn et Co. Leurs structures ont été déterminées par la diffraction aux rayons X.

Bibliographie :

[1] Ghosh, M., Layek, M., Fleck, M., Saha, R. and Bandyopadhyay, D. (2015) Synthesis, Crystal Structure and Antibacterial Activities of Mixed Ligand Copper(II) and Cobalt(II) Complexes of a NNS Schiff Base. *Polyhedron*, 85, 312-319.

<https://doi.org/10.1016/j.poly.2014.08.014>

[2] Khorshidifard, M., Rudbari, H.A., Kazemi-Delikani, Z., Mirkhani, V. and Azadbakht, R. (2015) Synthesis, Characterization and X-Ray Crystal Structures of Vanadium(IV), Cobalt(III), Copper(II) and Zinc(II) Complexes Derived from an Asymmetric Bidentate Schiff-Base Ligand at Ambient Temperature. *Journal of Molecular Structure*, 1081, 494-505.

<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2014.10.071>

Influence de la température et du palier de calcination sur les propriétés physico-chimique, minéralogique et pouzzolanique de cendres de bagasses de canne à sucre

Ouedraogo Moussa ^{a*}, Sawadogo Youssouf ^a, Sory Nassio ^a, Sawadogo Moustapha, Sanou Issiaka ^b,
Zerbo Lamine, Millogo Younoussa ^b, Seynou Mohamed ^a

^a *Laboratoire de Chimie Moléculaire et des Matériaux (LC2M), Université Joseph KI-ZERBO, Burkina Faso*

^b *Laboratoire de Chimie et Energies Renouvelables, Unité de recherche en Physico-Chimie et Technologie des Matériaux UFR/Sciences et Techniques, Université Nazi BONI, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso*

* *Auteur Correspondant : maximussa@yahoo.com*

Résumé : Dans cette étude, la bagasse de canne à sucre du Burkina Faso a été calcinée à des températures allant de 550 à 750 °C avec des paliers de 2 ou 3 heures pour produire des cendres pouzzolaniques comme matériaux cimentaires supplémentaires pour la production d'éco-ciment. Les cendres obtenues ont ensuite été caractérisées pour leur chimie, leur minéralogie et leur activité pouzzolanique. Les résultats de la caractérisation ont montré que, les cendres sont riches en silice amorphe avec une surface spécifique Blaine élevée et une densité autour de 2,5. Les cendres sont donc des pouzzolanes siliceuses de type F. Les principales phases cristallines identifiées dans ces cendres sont le quartz (SiO₂), la calcite (CaCO₃), la muscovite (KAl₂AlSi₃O₁₀(OH)₂), le microcline (KAlSi₃O₈) et l'hématite (Fe₂O₃). Les tests de Frattini et de saturation à la chaux ont montré que toutes les cendres possèdent une activité pouzzolanique due à la formation de CSH résultant de la réaction entre la portlandite du ciment et la silice amorphe des cendres. L'activité de l'indice pouzzolanique est supérieure à la valeur minimale (75 %) exigée par la norme pour toutes les cendres sauf celles préparées à 750°C. Ainsi, ces cendres peuvent être utilisées comme substitut partiel du clinker.

Mots clés : Bagasse de canne à sucre, cendre, pouzzolane, éco-ciment, durabilité.

Titre : Influence of calcination temperature and stage on the physico-chemical, mineralogical and pozzolanic properties of sugar cane bagasse ashes

Abstract: In this study, sugarcane bagasse from Burkina Faso was calcined at temperatures ranging from 550 to 750°C with 2 or 3 hour increments to produce pozzolanic ash as supplementary cementitious materials for eco-cement production. The resulting ash was then characterized for its chemistry, mineralogy and pozzolanic activity. The results of the characterization showed that, the ashes are rich in amorphous silica with a high Blaine specific surface and a density around 2.5. The ashes are thus siliceous pozzolans of type F. The main crystalline phases identified in these ashes are quartz (SiO₂), calcite (CaCO₃), muscovite (KAl₂AlSi₃O₁₀(OH)₂), microcline (KAlSi₃O₈) and hematite (Fe₂O₃). Frattini and lime saturation tests showed that all the ashes possess pozzolanic activity due to the formation of CSH resulting from the reaction between the portlandite in the cement and the amorphous silica in the ashes. The pozzolanic index activity is higher than the minimum value (75%) required by the standard for all the ashes except those prepared at 750°C. Thus, these ashes can be used as a partial substitute for clinker.

Keywords: Sugar cane bagasse, ash, pozzolan, eco-cement, durability.

1. Introduction

La bagasse de canne à sucre est un sous-produit industriel de la production du sucre alimentaire et de l'alcool. Elle a été longtemps utilisée dans la fertilisation des sols de cultures agricoles, dans la stabilisation de certains matériaux de construction comme les adobes et aussi comme support de traitement des eaux usées. Ces dernières années, elle a attiré l'attention de nombreux chercheurs sur les possibilités d'utiliser ces cendres comme un ajout cimentaire.

En effet le ciment, matériau nécessaire à la réalisation des travaux de construction, se classe au troisième rang des matériaux les plus utilisés, devancé seulement par l'acier et l'aluminium [1]. Cependant l'utilisation du ciment n'est pas sans conséquence. Sa production est énergivore et polluante. La production d'une tonne de ciment dégage environ une tonne de dioxyde de carbone et consomme 4,9 GJ d'énergie. Aussi, l'hydratation du ciment libère de la portlandite qui affecte les performances

mécaniques et la durabilité des mortiers [2]. Pour pallier les difficultés liées à l'utilisation du ciment, l'utilisation de matériaux pouzzolaniques comme ajout dans la production du ciment se présente comme une alternative.

La pouzzolane est un aluminosilicate composé de fines particules, dont la présence dans un matériau diminue sa porosité et le rend plus compact. Son incorporation au ciment engendre une réaction dite pouzzolanique entre la portlandite du ciment et la silice amorphe de la phase vitreuse de la pouzzolane [5]. Cette réaction favorise la formation de nouveaux hydrates CSH et la réduction de la quantité de la portlandite. L'utilisation de la pouzzolane dans le mortier ou dans le béton entraîne de nombreuses propriétés bénéfiques, comme la faible chaleur d'hydratation, la résistance à la compression élevée, la faible perméabilité, la haute résistance aux sulfates et la faible activité de l'alcali-silice [4-6]. Comparativement au clinker, les pouzzolanes ont besoin de moins d'énergie pour leur préparation et broyage.

Parmi ces matériaux pouzzolaniques, la cendre de bagasse de canne à sucre a fait l'objet de plusieurs études pour évaluer et optimiser l'activité pouzzolanique de ladite cendre [5, 6, 7- 9]. Les résultats obtenus sont fortement dépendant de la chimie (teneur en silice, impuretés), de la minéralogie (phase amorphe, calcite, carbone résiduel), des propriétés physiques (granularité, finesse, densité) des cendres. Ces différentes propriétés sont en partie liées à la variété de la canne à sucre et des conditions de préparation de la cendre. Les résultats disponibles ne sont donc pas superposables et exige alors pour une utilisation efficiente de la canne à sucre disponible au Burkina des investigations scientifiques supplémentaires.

Le présent travail vise une optimisation de l'activité pouzzolanique des cendres de bagasse de canne à sucre issues du Burkina Faso. Il s'agira de suivre de façon particulière, l'effet de la température et du temps de palier de calcination sur les propriétés physiques, chimiques, minéralogiques et pouzzolaniques des cendres.

2. Matériels et méthodes expérimentales

2.1. Matériels

La matière première qui fait l'objet de la présente étude est la bagasse de cannes à sucre de la Société Nouvelle Sucrière de la Comoé du Burkina Faso (SN - SOSUCO – BF). C'est un sous-produit de la transformation des cannes à sucre en sucre de consommation alimentaire et en alcool. La SOSUCO produit annuellement environ 490 208 tonnes de canne à sucre pour une superficie cultivée de 4 879 hectares. Le sous-produit correspond à environ à 25% de la production soit environ 122 552 tonnes par an. La quantité du sous-produit est importante et justifie un intérêt de valorisation dans la production d'éco-ciment si l'activité pouzzolanique des cendres est avérée. La **figure 1** représente l'image de la bagasse de canne à sucre après différent traitement. La bagasse ne fait pas l'objet d'une valorisation particulière. Elle est par moment utilisée comme source de production de feu des populations locales et aussi comme fertilisant des sols de culture.

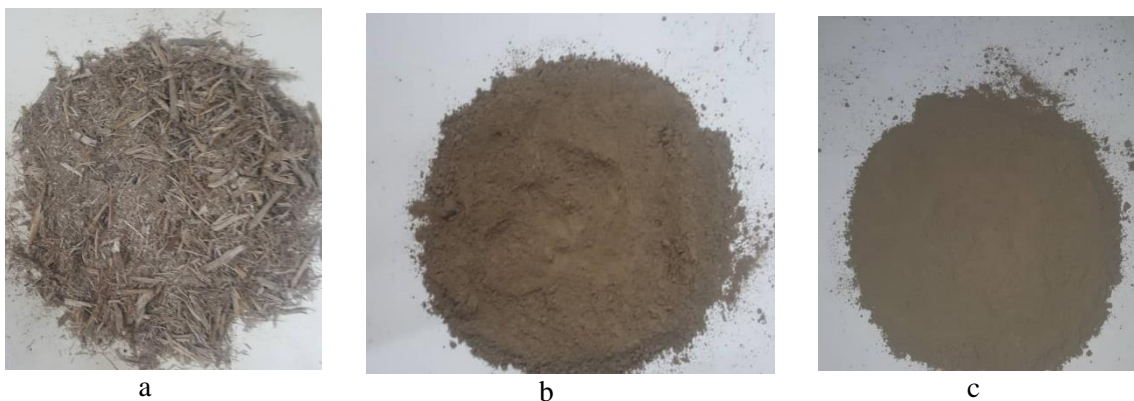


Figure 1 : a- bagasse de canne à sucre ; b- poudre de bagasse de canne à sucre ; c- cendre de bagasse de canne à sucre

2.2. Méthodes

2.2.1. Production des cendres

Les précurseurs secs des bagasses de canne à sucre ont été calcinés dans un four Nabertherm P300 entre 550 et 750° C, avec une rampe de montée en température de 10°C/min. La durée de calcination est de 2 ou 3 heures. Après calcination, le four avec son contenu sont laissés au régime naturel de refroidissement du four dans le laboratoire. Les cendres obtenues sont broyées dans un broyeur à billes afin d'obtenir une poudre visuellement fine.

2.2.2. Propriétés physiques des cendres

La densité des poudres de cendres de bagasse a été déterminée à l'aide d'un pycnomètre à essence de térébenthine. La finesse des particules composant les cendres est appréciée en utilisant l'analyse granulométrique par diffraction laser d'une part et la détermination de la surface spécifique Blaine d'autre part. L'appareil utilisé pour la granulométrie est de type CILAS 1090 Liquid utilisant de l'eau comme solution. Pour les essais Blaine, l'appareil utilisé est un perméabilimètre de marque Controlab vision 120.

2.2.3. Analyse chimique et minéralogique des cendres

La composition chimique élémentaire des cendres a été déterminée par fluorescence des rayons X. L'appareil utilisé pour la détermination des teneurs en carbone est un LECO CS230 piloté par un ordinateur.

L'identification des phases minérales des cendres a été faite en couplant la diffraction des rayons X (DRX), la spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR) et l'analyse thermogravimétrique (ATG – DTG). Le diffractogramme de poudre a été enregistré avec un diffractomètre Bruker AXS utilisant la radiation $\text{CuK}\alpha$ comme source de rayonnement et un monochromateur arrière en graphite. Le spectromètre infrarouge utilisé pour l'identification des groupements fonctionnels des espèces minérales est de type Perkin Elmer UATR 1 frontiers FT-IR. Les courbes ATG ont été enregistrées avec un appareil Linseis et fonctionnant sous atmosphère d'air avec la vitesse de chauffe de 10 °C·min⁻¹. De ces courbes ATG sont déduites les courbes DTG dérivées des courbes ATG par rapport à la température.

2.2.4. Activité pouzzolanique des cendres

Des méthodes chimiques et minéralogiques ont été associées pour évaluer l'activité pouzzolanique des cendres de bagasse de cannes à sucres. La méthode chimique utilisée est la méthode de Frattini. Le test de Frattini est une méthode d'essai accéléré, basé sur la réduction de la quantité de la portlandite ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) pour apprécier la qualité d'une pouzzolane. Cet essai, actuellement admis universellement, permet d'évaluer l'aptitude d'une pouzzolane à fixer la portlandite libérée lors de l'hydratation du ciment. De façon pratique, à 20 g d'un mélange composé de 80 % d'un ciment CEM I (CPA 45 de Diamond Cement) et 20 % de cendre à tester, on ajoute 100 mL d'eau distillée. L'ensemble est laissé sous agitation à 40 °C pendant 8 jours avant d'être filtré sur Buchner avec un papier filtre Whatman. Le filtrat est analysé pour les ions OH^- par du HCl dilué avec l'hélianthine comme indicateur coloré. La quantité d'ions Ca^{2+} dans le filtrat est déterminée par de l'EDTA (0,03 mol·L⁻¹) à pH = 12,5 avec l'indicateur coloré de Patton et Reeders [10]. L'ensemble des essais est effectué suivant la norme BS EN 196-5 [11]. Pour la méthode minéralogique, c'est à dire l'identification de phases néoformées pendant la réaction pouzzolanique, les échantillons ayant subi l'essai Frattini ont été testés en utilisant les analyses thermiques (ATG – DTG), la diffraction des rayons X (DRX) et la spectrométrie infrarouge (FT – IR).

3. Résultats et discussion

3.1. Propriétés physiques des cendres

La distribution granulométrique (**figure 2**) indique une granularité uniforme de l'ensemble des cendres avec trois familles granulaires respectivement autour de 50, 10 et 2µm. Le D_{50} des particules d'environ 26,16 µm est supérieur aux valeurs trouvées par Cordeiro et al et Rossignolo et al sur des cendres de bagasses de canne à sucre. La surface spécifique Blaine des cendres (**tableau 1**) varie entre 5156 et 6038 cm²/g et est nettement supérieure à celle du ciment (4559 cm²/g) utilisé dans ce travail. Ces valeurs élevées de surfaces spécifiques traduisent la finesse des cendres et augurent de leur bonne réactivité

pouzzolanique. La granularité et la finesse des cendres ne sont pas influencées de façon appréciable par l'évolution de la température et du palier de cuisson. La densité moyenne des cendres est de 2,53 et est conforme aux valeurs de la littérature qui se situent entre 1,85 et 2,65 pour les cendres de bagasses de canne à sucre.

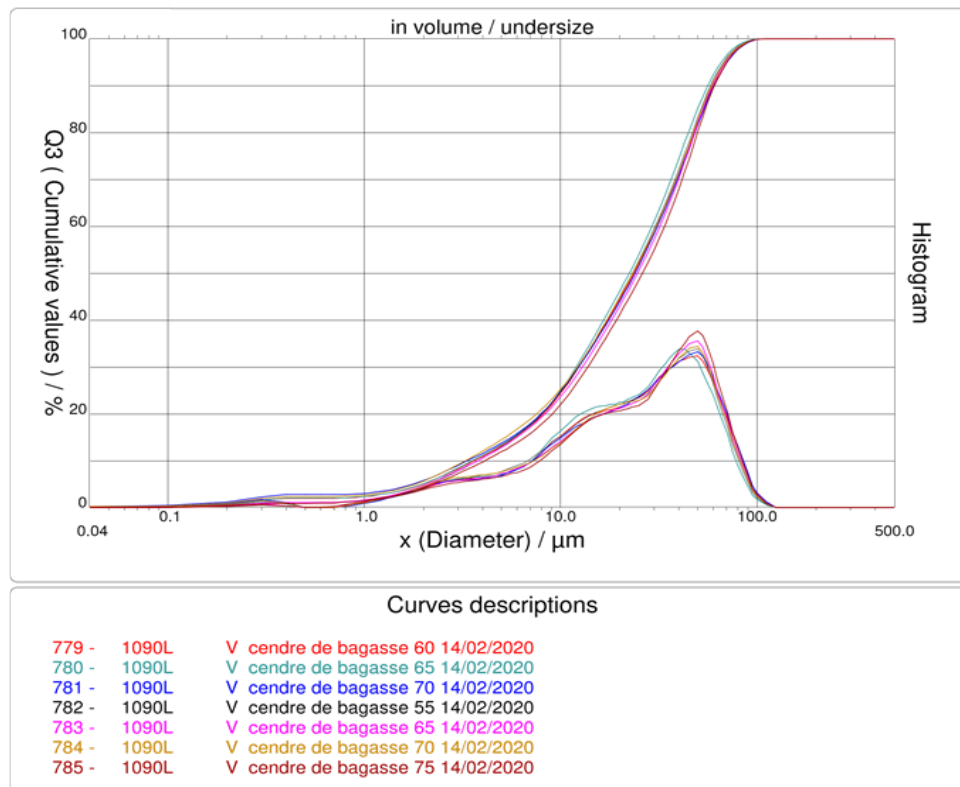


Figure 2 : Distribution granulométrique des cendres

Tableau. 1 : Surface spécifique Blaine

Cendres	600-2H	650-2H	700-2H	600-3H	650-3H	700-3H
Blaine (cm ² /g)	5156	5254	5417	6038	5337	5232

3.2. Analyse chimique élémentaire des cendres

La composition chimique élémentaire des cendres est consignée dans le **tableau 2**. Les cendres sont composées majoritairement de silice avec de l'alumine, de l'oxyde de fer et de potassium en quantité relativement appréciable. Les compositions chimiques des cendres ne sont pas affectées de façon sensible par la température et le palier de cuisson. Cependant la teneur en silice augmente avec le temps du palier de cuisson. La somme $\text{SiO}_2 + \text{Al}_2\text{O}_3 + \text{Fe}_2\text{O}_3$ des cendres varie entre 79 et 87% et est supérieure à la valeur minimale requise de 70% pour être une pouzzolane [12, 13]. Aussi, la teneur en CaO est inférieure à 10 % et permet ainsi de conclure que nos deux cendres sont des pouzzolanes de type F [14]. Les teneurs en K_2O sont importantes et pourraient affecter la durabilité des mortiers par des réactions alkali-silice. Le Na_2O équivalent calculé (4,28 % pour 2heures de palier et 2,55 % pour 3heures de palier) sont largement au-dessus de la limite supérieure recommandée de 0,6% [15, 16]. La teneur en carbone (**tableau 2-c**) diminue avec l'augmentation de la température et du palier de calcination. Les teneurs de carbone sont inférieures à 6% comme exigée par la norme excepté la cendre obtenue à 600 °C avec 2heures de palier. Ces faibles teneurs en carbone améliorent la réactivité pouzzolanique des cendres et la durabilité des produits qui seront élaborés [3, 4].

Tableau 2-a : Analyse chimique élémentaire des cendres pour 2 heures de palier

Oxydes (%)	SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	CaO	MgO	K ₂ O	Na ₂ O	Total
Température (°C)								
600	64,14	6,82	5,12	1,78	1,75	6,32	0,22	86,15
650	64	8,16	5,04	1,80	1,90	6,55	0,25	87,69
700	63,86	9,5	4,96	1,81	2,04	6,78	0,27	89,22
750	66,32	12,97	5,27	1,35	1,6	4,7	0,36	92,58
Moyenne	64,58	9,36	5,10	1,68	1,82	6,09	0,27	88,91

Tableau 2-b : Analyse chimique élémentaire des cendres pour 3 heures de palier

Oxydes (%)	SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	CaO	MgO	K ₂ O	Na ₂ O	Total
Température (°C)								
600	69,79	9,86	3,02	1,92	1,78	5,57	0,05	92,19
650	72,5	10,63	4,04	1,14	1,34	3,56	0,08	93,28
700	74,22	9,87	4,13	1,72	0,96	2,7	0,03	93,62
750	75,91	10,49	2,99	0,84	1,31	3,3	0,07	94,9
Moyenne	73,11	10,21	3,55	1,59	1,35	3,78	0,06	93,50

Tableau 2-c : Teneur (%) en carbone des cendres

Température (°C)	600	650	700
Palier			
2heures	7,58	4,63	3,01
3heures	4,20	2,87	2,07

3.3. Analyse minéralogique des cendres

Les **figures 3** et **4** représentent les diffractogrammes des cendres de bagasse de canne à sucre obtenues respectivement aux paliers de 2 heures et 3 heures. Les principales phases identifiées sont le quartz (q), la calcite (c), la muscovite (mu), le microcline (mi) et l'hématite (h). La minéralogie est en accord avec la chimie. Fe₂O₃ justifie la présence de l'hématite, K₂O et Al₂O₃ justifie la présence de la muscovite, du microcline, du sylvine et de l'acarnite. Le CaO corrobore la présence de la calcite. La silice SiO₂ justifie la présence de quartz et également de la muscovite et le microcline.

Les spectres infrarouges (**figures 5** et **6**) des cendres sont typiques des cendres siliceuses. Toutes les cendres présentent une large bande localisée autour de 1000 cm⁻¹ est attribuable à la vibration des liaisons Si-O de la silice amorphe des cendres [17]. Cette bande augmente en taille avec l'accroissement de la température de cuisson des bagasses, elle caractérise un matériau amorphe [18]. La présence de la calcite quant à elle, est indiquée par la bande de vibration à 1469 cm⁻¹ et par l'épaule à 878 cm⁻¹ caractéristiques des carbonates CO₃²⁻ [19]. Le doublet à 778 - 800 cm⁻¹ correspond à la vibration Si-O du quartz. Les bandes de la calcite sont affectées par l'élévation de la température et diminuent en intensité. Les bandes à 693 et 619 cm⁻¹ sont attribuables respectivement aux vibrations des liaisons Si-O-Si et Si-O-Al de la muscovite et du microcline. La bande à 1419 cm⁻¹ est attribuable à la liaison CH des matières organiques non brûlées.

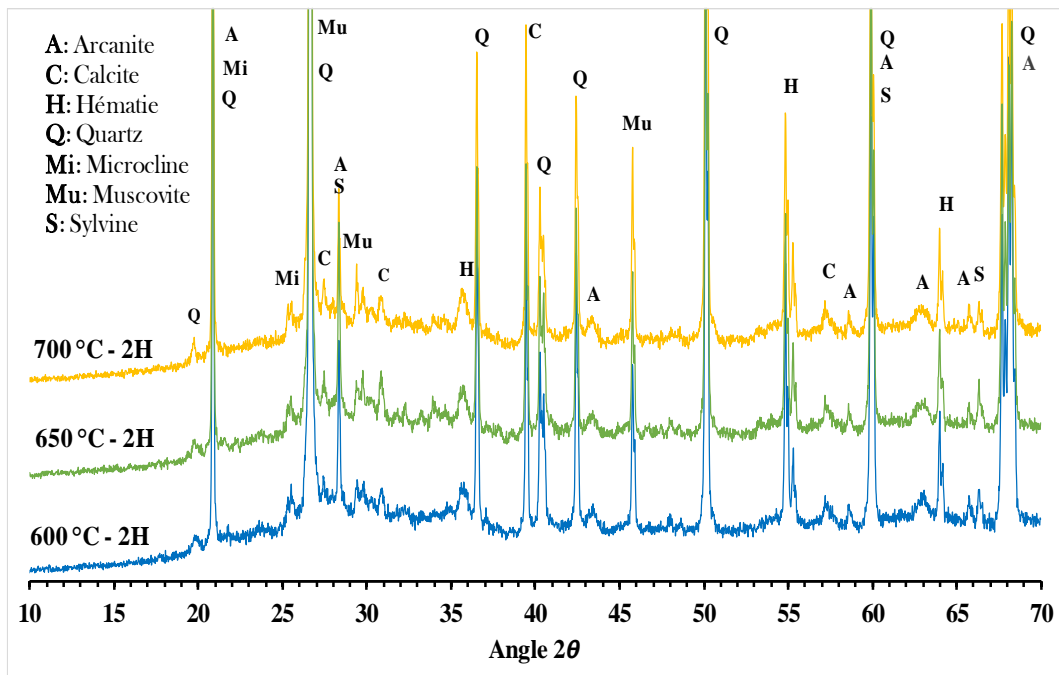


Figure 3 : Diffractogramme des CBCS au palier 2 heures

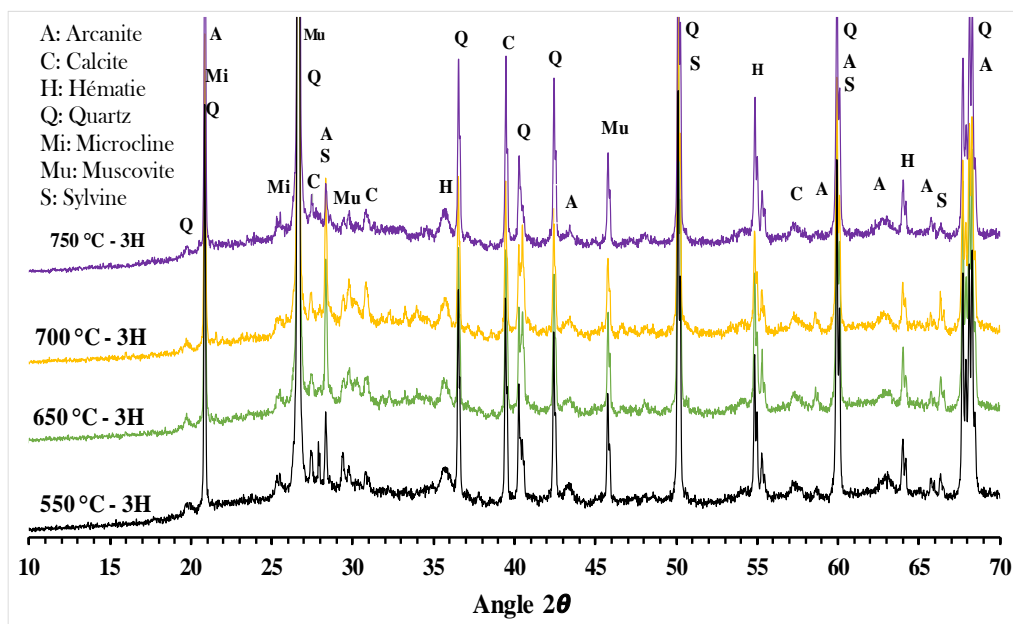


Figure 4 : Diffractogramme des CBCS au palier 3 heures

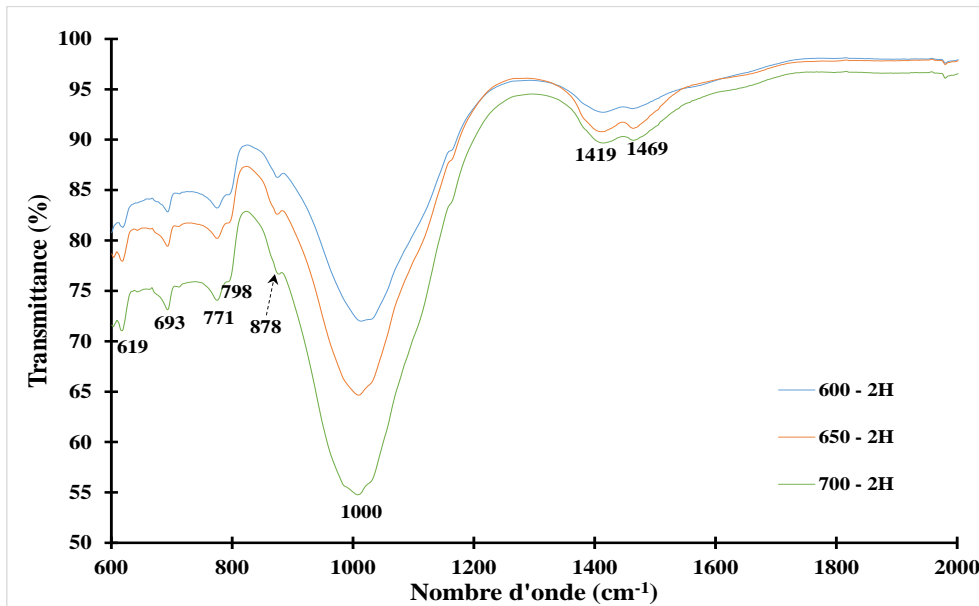


Figure 5 : Courbes IR des CBCS au palier 2 heures

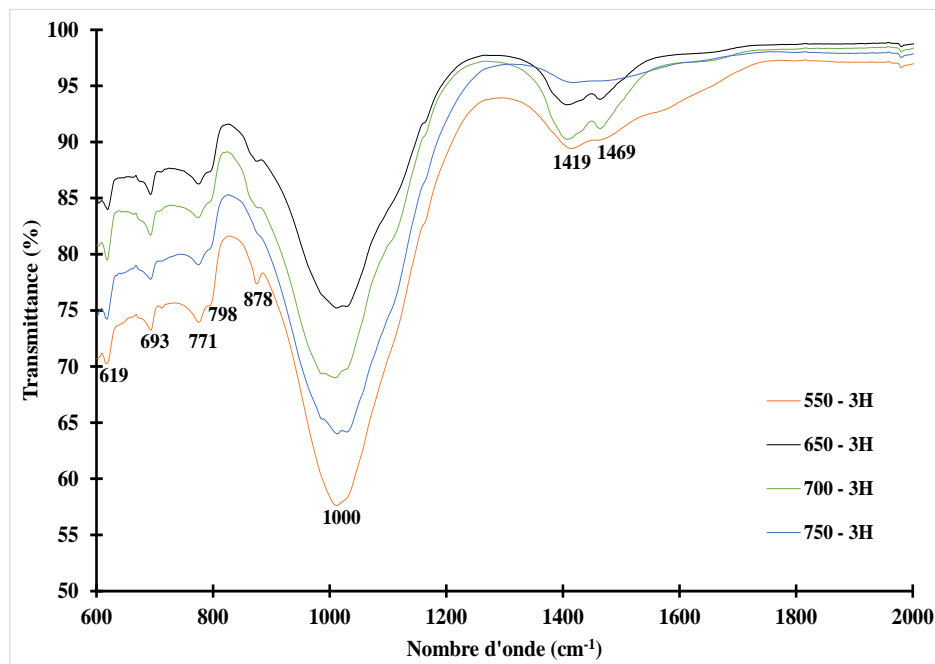


Figure 6 : Courbes IR des CBCS au palier 3 heures

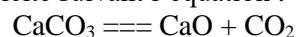
Les courbes ATD et ATG des cendres obtenues à 650 °C avec les paliers 2heures et 3heures sont données par la **figure 7**. Des pertes de masse associées à des pics endothermiques sont attribuables à des phases identifiées par DRX. Ainsi nous avons :

- un pic large entre 60 et 200 °C avec une perte de masse de 3 % correspond au départ d'eau d'hydratation des cendres [20].

- un pic très faible autour de 276 °C attribuable à la transformation structurale de l'hématite ;

- un large pic entre 340 et 600 °C associé à une perte de masse de 2,5% correspond à la pyrolyse de la matière organique libre dans les cendres. Cette perte confirme les taux de carbone obtenue avec les cendres préparées à 650°C qui sont de 2,87-4,63% ;

- un pic bien défini entre 600 et 720 °C avec une perte de masse d'environ 1,5% est attribuable à la décarbonatation de la calcite suivant l'équation :



Equation 3.1 ;

- un large pic entre 800 et 1040 °C avec un épaulement à 840 °C. L'épaulement traduit la déshydroxylation de la muscovite. Le pic entre 900 et 1000 °C correspond transformation de la phase

amorphe en phase cristalline [21, 22]. L'effet du palier de cuisson est observé avec un léger décalage des pics correspondant au départ d'eau, à la décomposition de la calcite et de la transformation de la silice amorphe en phase cristalline.

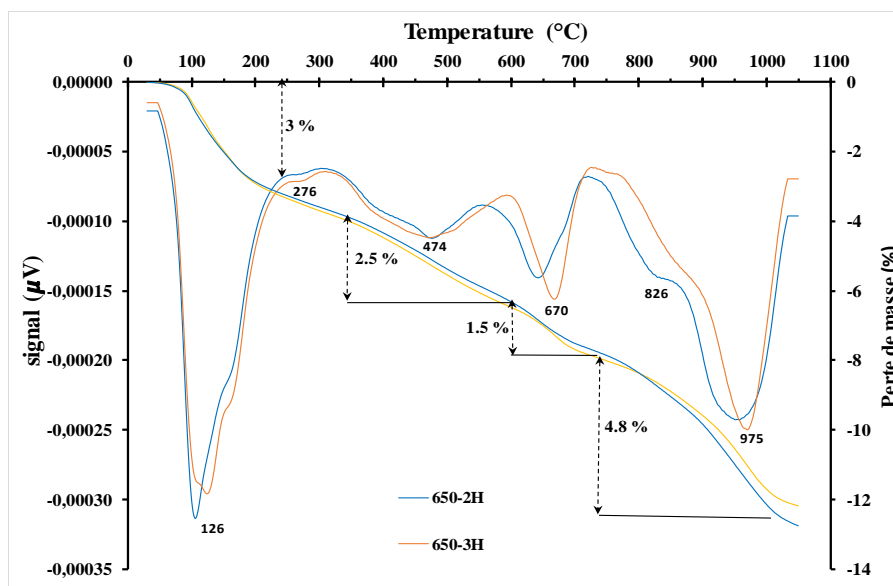


Figure 7 : courbes ATG - DTG des cendres

3.4. Activité pouzzolanique des cendres

3.4.1. Test de Frattini

Les concentrations en OH et en CaO des solutions à l'issue de l'essai Frattini sont données dans les tableaux 4 et 5. Les teneurs maximales théoriques de CaO sont calculées en utilisant la relation décrite par la norme EN 196 -5 :

$$\text{Max}[\text{CaO}] = \frac{350}{[\text{OH}]-15} \quad \text{Relation 1}$$

De ces valeurs, la réduction en CaO est estimée et permet d'apprécier l'activité pouzzolanique des cendres. Les résultats obtenus montrent que les cendres ont pu fixer au bout de 8 jours des quantités appréciables de chaux allant de 56,81 à 70,9 %. Ces résultats indiquent la réactivité pouzzolanique effective des cendres utilisées [23]. La silice, présente en grande quantité dans les cendres, réagit avec la portlandite et conduit à la formation de silicates de calcium hydratés (C-S-H) [24-26]. En effet, les cendres provoquent une baisse du pH, ce qui provoque la dissolution de la portlandite et permet aux ions Ca^{2+} d'intervenir dans les réactions pouzzolaniques. Les gels de CSH sont issus d'une part de l'hydratation des composés C_3S et C_2S du ciment et d'autre part de la réactivité pouzzolanique entre la portlandite libérée pendant l'hydratation du ciment et la silice amorphe provenant des cendres selon le mécanisme suivant :

- dissolution de la portlandite selon l'équation 1 :



- dissolution en milieu basique de la silice de la cendre de bagasse de canne à sucre selon l'équation 4.2 :



- réaction en milieu aqueux des ions Ca^{2+} libérée avec la silice solubilisée ($\text{H}_2\text{SiO}_4^{2-}$) pour former des CSH selon l'équation 4.3 :

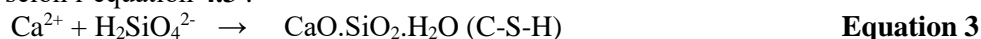


Tableau 4 : Résultats de l'essai de Frattini de Cendres obtenues avec le palier de 2 heures

Echantillons	[OH] (mmol.L ⁻¹)	[CaO] en (mmol.L ⁻¹)	[CaO] max en (mmol.L ⁻¹)	Réduction [CaO] en %
550 -2H	52,50	3,40	9,33	63,56
600 – 2H	46,17	4,30	11,23	61,71
650 – 2H	50,50	3,70	9,86	62,47
700 – 2H	47,50	3,60	10,77	66,57
750 – 2H	51,67	3,30	9,54	65,40

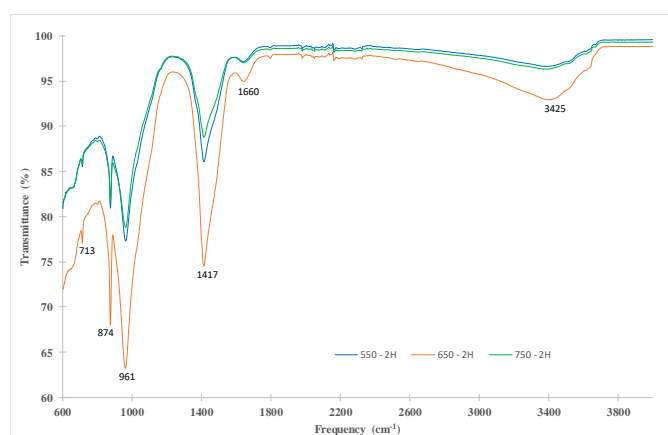
Tableau 5 : Résultats de l'essai de Frattini de Cendres obtenues avec le palier de 3 heures

Echantillons	[OH] en (mmol.L ⁻¹)	[CaO] en (mmol.L ⁻¹)	[CaO] max en (mmol.L ⁻¹)	Réduction [CaO] en %
550 -3H	46,83	3,60	10,99	67,24
600 – 3H	58,25	3,4	8,09	58,02
650 – 3H	60,83	3,30	7,64	56,81
700 – 3H	54,33	3,80	8,90	57,30
750 – 3H	36,67	4,70	16,15	70,90

3.4.2. Analyse minéralogique

Les spectres infrarouges des résidus issus de l'essai de Frattini sont donnés par les **figures 8 et 9**. Les bandes caractéristiques des cendres (Si-O de la silice principalement) ont quasiment disparues témoignant ainsi d'une réaction probable entre la portlandite libérée par le ciment et les composants des cendres pour former de nouveaux CSH. Les bandes à 1417 et 961 cm⁻¹ sont caractéristiques des CSH formés. La bande à 3410 cm⁻¹ est attribuable à la portlandite résiduelle. La calcite formée par carbonatation en contact du CO₂ de l'air est indiquée par les bandes à 874 et 713 cm⁻¹. La bande à 1660 cm⁻¹ est caractéristique de la vibration de la molécule d'eau.

Les courbes ATG et DTG des produits issus de l'essai Frattini sont données par les **figures 10 et 11**. Principalement quatre pics endothermiques sont observables. Les pics à 118 et 764 °C correspondent au départ d'eau des CSH. Le pic à 177 °C est attribuable aux CASH (C₂ASH₈ et C₄AH₁₃) formés. La portlandite résiduelle est indiquée par le pic à 474 °C. La calcite obtenue suite à la carbonatation est indiquée par l'épaule à 704 °C. Le faible pic à 398 indique la présence des hydrates C₃ASH₆ issus de la réaction pouzzolanique. Les courbes ATG permettent d'estimer le pourcentage en perte de masse de la portlandite résiduelle. Les résultats donnés dans le **tableau 6** corroborent ceux obtenus par l'essai Frattini

**Figure 8** : Courbes IR des résidus du test de Frattini des CBCS au palier 2 heures

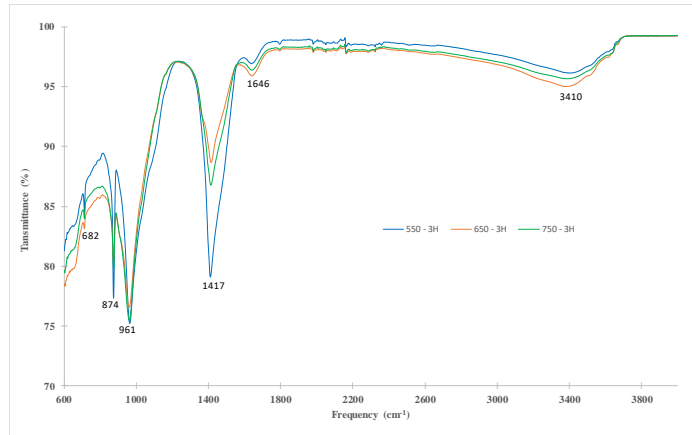


Figure 9 : Courbes IR des résidus du test de Frattini des CBCS au palier 3 heures

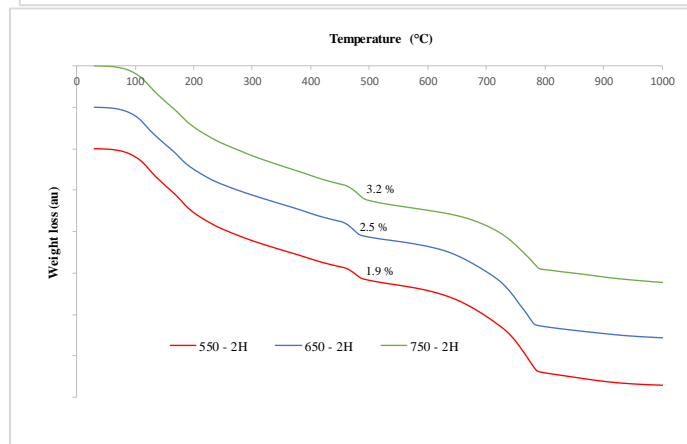
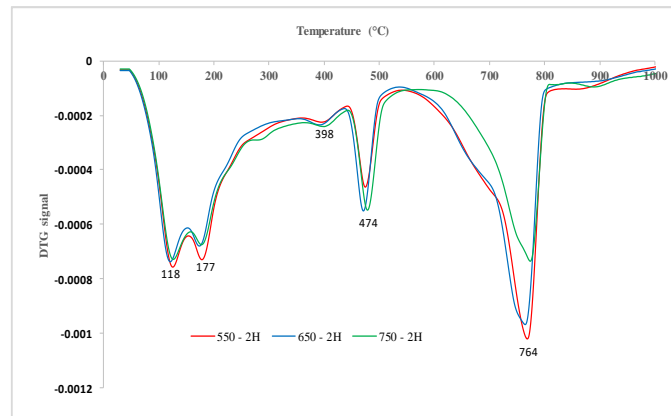


Figure 10 : a- DTG des résidus de Frattini pour les cendres avec 2heures de palier, b- ATG des mêmes résidus

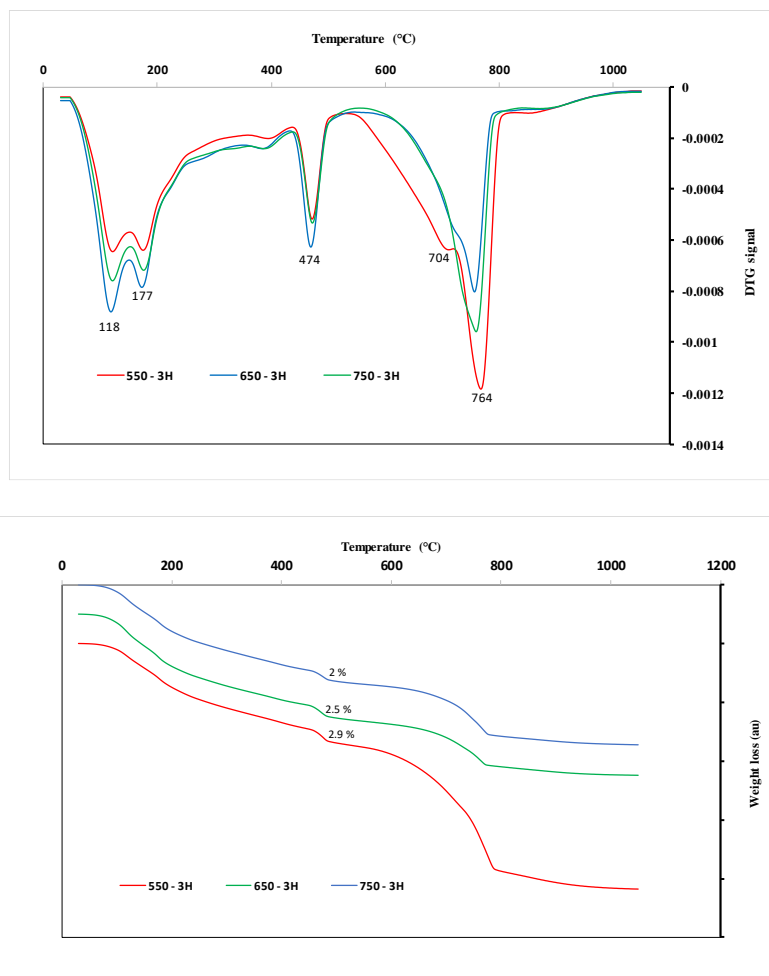


Figure 11 : a- DTG des résidus de Frattini pour les cendres avec 3heures de palier, b- ATG des mêmes résidus

Tableau 6 : Perte de masse liée à la portlandite résiduelle

Température	Perte en masse (%)	
	2heures	3heures
550 °C	1,9	2,5
650 °C	2,4	2,7
750 °C	2,5	2,2

Pour 2 heures de palier, la température de 550 °C présente moins de portlandite résiduelle que les deux autres. Pour le palier 3 heures, c'est la température de 750 °C qui présente le moins de portlandite résiduelle. Ces deux températures produisent alors les pouzzolanes les plus réactives.

4. Conclusion

Les cendres obtenues après calcination entre 550 et 750 °C avec des paliers de 2 heures ou de 3 heures de bagasses de canne à sucre ont été caractérisées pour évaluer leur activité pouzzolanique. Les conclusions suivantes peuvent être dressées :

- les propriétés physico-chimiques (finesse et densité) des cendres ne sont pas affectées ni par la température ni par le palier de cuisson car les cendres présentent la même granularité ;
- les cendres obtenues sont riches en silice avec des teneurs variant entre 63,86 à 75,91%. A cette silice s'ajoute de l'alumine, de l'oxyde de potassium (K₂O) et le Fe₂O₃ en quantité relativement appréciable ;
- les cendres obtenues sont des pouzzolanes de type F;
- les phases minérales identifiées dans les cendres sont le quartz, la muscovite, le microcline, la calcite et l'hématite ;

- les cendres fixent de la portlandite libérée par l'hydratation du ciment avec des teneurs allant de 56,02 à 70,9%. Les quantités fixées sont affectées par la température et le palier de cuisson des bagasses. Les paliers affectent les quantités de chaux fixées.

Une valorisation des bagasses de canne à sucre de la SN SOSUCO est possible dans le domaine du ciment par ces cendres.

Les tests de Frattini ont montré une forte réactivité pouzzolanique des cendres obtenues. Ces différents résultats sont confirmés par les essais minéralogiques qui indiquent une grande consommation de la portlandite au profit de CSH avec l'ajout des cendres dans la matrice cimentaire. Les paliers 2H et 3H développent de meilleures propriétés pouzzolaniques. Les cendres obtenues peuvent être utilisées comme ajout cimentaire.

5. Bibliographie

- [1] : **Thiam A., Alpha O.T., Fadila M.S., Gueye C.M.D.** : Ajout du mélange de silicate de calcium et de fluorure de calcium à des mortiers à base de clinker. *Journal de la Société Ouest Africaine de Chimie* 40 (2015), 41-44.
- [2] **Chaib O., Mouli M., Hanifi M., Hamadache M.** : Etude de l'influence des paramètres de la pouzzolane naturelle sur la résistance mécanique des mortiers à base de ciments composés. *Journal of Materials and Environmental Science* 7 (2) (2016), 422-428.
- [3] **Ganon F., Yameogo A., Sorgho B., Zerbo L., Seynou M., Millogo Y., Ouedraogo R.** : Préparation d'une pouzzolane à base d'une matière première argileuse du Burkina Faso. *Chemistry and Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry* 16 (4) (2015), 371-383.
- [4] **Issiaka Sanou, Moustapha Sawadogo, Mohamed Seynou, Lamine Zerbo, Raguilnaba Ouedraogo**: Study of the Mechanical Behaviour of Mortars Modified with Rice Husk Ash: *Journal of minerals and Materials Characterization and Engineering*, 2019, 7, 373-384.
- [5] **Parisa Setayesh Gar, Narayana Suresh, Vivek Bindiganavile**: Sugar cane bagasse ash as a pozzolanic admixture in concrete for resistance to sustained elevated temperatures.; *Construction and Building Materials* 153 (2017) 929–936
- [6] **Donatello S., Tyrer M., Cheeseman C.R.**: Comparison of test methods to assess pozzolanic activity.; *Cement & Concrete Composites* 32 (2010) 121–127
- [7] **Rossignolo J.A., Borrachero M.V., Soriano L., Payá J.**; *Construction and Building Materials* 187 (2018) 892–902
- [8] **Moisés Frías, Ernesto Villar, Holmer Savastano**: Brazilian sugar cane bagasse ashes from the cogeneration industry as active pozzolans for cement manufacture; *Cement & Concrete Composites* 33 (2011) 490–496
- [9] **Marcela M.N.S. de Soares, Dayana C.S. Garcia, Roberto B. Figueiredo, Maria Teresa P. Aguilar, Paulo R. Cetlin**: Comparing the pozzolanic behavior of sugar cane bagasse ash to amorphous and crystalline SiO₂; *Cement and Concrete Composites* 71 (2016) 20-
- [10] **P. Hervé** : Le système " Pouzzolanes naturelles-chaux-Eau" A 38 °C et 100 °C, relations entre la réactivité chimique, les phases néoformées et les conséquences physico-mécaniques. Thèse de l'Université Joseph Fourier-Grenoble I; (1994).
- [11] **S. Donatello, M. Tyrer, C.R. Cheeseman**: Comparison of test methods to assess pozzolanic activity. *Cement and concrete composites* 32, 121-127. (2010)

Formulations de blocs de terre comprimée Biosourcés à base de terre d'argile amendée aux poudres de coque d'arachide.

Nassio Sory^a, Mohamed Seynou^a, Issiaka Sanou^b, Lamine Zerbo^a, Youssouf Sawadogo^a, Moussa Ouedraogo^a, Bamogo Halidou^b.

^aLaboratoire de Chimie Moléculaire et de Matériaux, équipe de physico-chimie et de Technologie des matériaux UFR/SEA, Université Joseph Ki-Zerbo 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

^bLaboratoire de Chimie et d'Énergie Renouvelable, Unité de recherche en physico-chimie et technologie des matériaux, UFR/ST, Université Nazi BONI, B.P. 1091 Bobo 01, Burkina Faso.

Résumé : L'objectif de ce travail consiste à valoriser deux matières premières naturelles locales à savoir la terre et la coque d'arachide dans la production des BTC biosourcés à faible conductivité thermique, meilleure résistance à l'eau et meilleure résistance mécanique. Pour cela une argile sablo-limoneuse de plasticité moyenne ne contenant pas de minéraux gonflants constituée de kaolinite (40 % en masse), muscovite (8 % en masse), quartz (34 % en masse) et goethite (10 % en masse) a été mélangée avec la poudre de coque d'arachide à des teneurs allant de 10 à 40% en masse. La poudre de coques d'arachide, utilisée dans cette étude, contient principalement de la cellulose de type I associée de l'hémicellulose et de la lignine. Les propriétés physiques et mécaniques des BTC ont été évaluées. Il ressort de cette étude que les propriétés mécaniques ont été améliorées avec une teneur en coque d'arachide comprise entre 15 et 25% en masse. Tous les BTC élaborés, sauf le B40, sont dans la catégorie de la construction de mur porteur qui se caractérise par une résistance supérieure à 4 MPa. Cependant la poudre de coques d'arachide peut être utilisée dans la plage de 15 à 25 % en masse pour stabiliser le BTC pour la construction d'habitats.

Mots clés : Poudre de coques d'arachide, BTC biosourcés, Terre argileuse, Propriétés physiques et mécaniques.

Formulations of Biosourced compressed earth blocks based on clay soil amended with peanut shell powder.

Abstract : The objective of this study is to enhance two local natural raw materials, namely earth and peanut shell, in the production of biosourced (B-CEB) with low thermal conductivity, better water resistance and better mechanical resistance. For this, a sandy-loamy clay of medium plasticity containing no swelling minerals consisting of kaolinite (40% by mass), muscovite (8% by mass), quartz (34% by mass) and goethite (10% by mass) was been mixed with groundnut shell powder at contents ranging from 10 to 40% by mass. The groundnut shell powder used in this study mainly contains type I cellulose associated with hemicellulose and lignin. The physical and mechanical properties of BTCs were evaluated. It appears from this study that the mechanical properties were improved with a peanut shell content of between 15 and 25% by mass. All the BTCs developed, except the B40, are in the category of load-bearing wall construction which is characterized by a resistance greater than 4 MPa. However groundnut shell powder can be used in the range of 15-25% by mass to stabilize BTC for building habitats.

Keywords: Peanut shell powder, B-CEB, clay soil, physical and mechanical properties.

1. Introduction

Au Burkina Faso, la majorité de la population n'a pas accès à l'habitat durable. Le prix de la construction utilisant les matériaux de construction dits modernes, tels que le ciment, l'acier, est exorbitant. Le pays ne dispose pas des ressources nécessaires pour produire ces matériaux à des prix compétitifs les rendant inaccessibles à un grand nombre de populations. L'importation de matières premières et le manque de sources d'énergie sont les principales causes de l'augmentation perpétuelle du prix de ces matériaux industriels.

Cela fait que la majorité de la population construit sa construction en utilisant des briques de terre. La terre est un matériau noble, disponible localement en abondance, jetable et recyclable [1-3]. Ses propriétés hygroscopiques et thermiques et sa facilité d'utilisation sont d'autres avantages liés à la terre [4-5] La terre est un matériau écologique car elle nécessite moins d'énergie pour sa production et émet

moins de CO₂. La durée de vie de la construction en terre est de plus de 100 ans [6]. Toutes ces qualités de la terre montrent qu'il s'agit d'un matériau qui prend en compte les aspects socio-économiques et environnementaux du cadre bâti. C'est donc un matériau commode pour la construction de bâtiments sous un climat aride et chaud comme au Burkina Faso.

Malgré les nombreux avantages de la terre, la construction en adobes, briques de terre moulées, présente une faible durabilité liée à leur faible résistance aux dégâts mécaniques et aux dégâts des eaux [7]. Ces problèmes sont liés à la mauvaise cohésion de la matrice argileuse et à l'apparition d'un grand nombre de pores et éventuellement de fissures lors de la fabrication des briques en terre crue. Pour pallier ces problèmes, de nombreuses méthodes de stabilisation des briques de terre ont été proposées pour améliorer les propriétés physiques et mécaniques et notamment la résistance à l'eau et le confort thermique. Le bloc de terre comprimée (BTC) est le produit le plus courant obtenu par stabilisation mécanique (compactage) des briques de terre.

Le BTC est une évolution moderne des blocs de terre moulés, plus communément appelés blocs d'adobe [8]. En effet, le compactage peut permettre d'obtenir un matériau à hautes caractéristiques mécaniques. Cependant, ce matériau reste sensible à l'eau. De nombreux chercheurs ont proposé l'utilisation de liants inorganiques (minéraux) tels que le ciment et/ou la chaux pour améliorer (stabiliser) les performances du BTC. Ces liants industriels améliorent les propriétés physiques, mécaniques et de résistance à l'eau du BTC ; mais limite les possibilités de recyclage des matériaux de la terre et augmente son impact environnemental. Alternativement, d'autres études ont rapporté que les liants géo-sourcés et les liants provenant de sources de sous-produits (déchets) améliorent les performances des BTC ; ce qui limite à la fois leur impact sur l'environnement et la consommation des ressources naturelles [7, 9 - 11]

De plus, les fibres végétales organiques ont été proposées par de nombreux chercheurs, ces dernières années, pour remplacer les liants inorganiques dans la stabilisation du BTC. Le BTC a été stabilisé avec de la fibre de palmier dattier [12], de la fibre de bananier [13], des copeaux de bois [14], de la fibre d'alfa et de la fibre d'hibiscus *cannabinus* [15, 16]. Pour de nombreux cas d'études, la matière végétale a été utilisée sous forme de fibre avec une teneur comprise entre 1 et 10 % en en masse. La matière végétale était rarement utilisée en pourcentage dépassant 10% en masse. La stabilisation du BTC à l'aide de fibres végétales apporte un gain d'économie d'énergie significatif par rapport aux liants inorganiques et réduit la conductivité thermique du BTC bio-sourcés. Cela peut améliorer le confort thermique des constructions et contribue à la réduction de la production de gaz à effet de serre. De nombreuses études sur les BTC ont montré que l'incorporation de fibres végétales réduit la propagation des fissures, améliore sa durabilité et sa résistance à la traction, ou du moins diminue la conductivité thermique des matériaux composites. De plus, certains résultats contradictoires ont été rapportés sur l'augmentation des propriétés mécaniques avec l'utilisation de fibres naturelles. Rigassi et al [17] ont déclaré que les fibres végétales sont incompatibles avec la méthode de compactage du BTC, car elles rendent le mélange trop élastique.

L'objectif de ce travail est de valoriser deux matières premières naturelles locales à savoir la terre et la coque d'arachide dans la production de BTC avec une faible conductivité thermique, une meilleure résistance à l'eau et une meilleure résistance mécanique. La nouveauté scientifique de ce travail est de mettre en évidence l'utilisation de la poudre de coques d'arachide à un taux élevé dans l'élaboration de matériaux bio-sourcés pour la construction. Les différents résultats permettront une avancée significative dans la disponibilité de matériaux de construction durables à faible impact environnemental et accessibles par la population rurale du Burkina.

2. Matériels et méthodes expérimentales

2.1. Matières premières

La matière première argileuse utilisée dans cette étude référencée BAM, a été prélevée sur le site argileux de Kongoussi dans le centre-nord du Burkina Faso aux coordonnées géographiques 13°18' latitude Nord et 1°30' longitude Ouest. Ce site est fortement exploité par la population pour la poterie et la confection de matériaux de construction (briques, revêtements des toits ou des murs). Le volume de la terre argileuse était important par rapport à la taille de la surface qu'il recouvrait.

Les déchets agricoles faisant l'objet de ce travail sont les coques d'arachide. C'est un sous-produit d'une plante légumineuse appelée arachide dont le nom botanique est *Arachis Hypogaea* L. L'arachide appartient à la sous-famille des Papilionacées de la famille des Fabacées. Plante fleurie d'une hauteur d'environ 20 à 90 cm, l'arachide est cultivée dans les régions chaudes en raison de sa résistance à la

chaleur et à la sécheresse. L'arachide est cultivée principalement pour ses graines et son huile. C'est la sixième plus grande source de production d'huile dans le monde (FAO 2003). Les coques d'arachides sont généralement abandonnées dans les champs de culture sans problème de récupération très important. La production d'arachides en Afrique est importante selon les données de FAOSTAT (**tableau 1**) pour cinq pays. Les coques brutes ont été broyées et tamisées à 210 µm avant d'être utilisées dans la formulation. Pour la suite la coque d'arachide est référencée CAR.

Tableau 1. : Production annuelle d'arachide (FAOSTAT 2020)

Année	Burkina Faso	Ghana	Mali	Sénégal	Tchad
2015	365 887	417 199	421 924	1 050 042	720 138
2016	519 345	425 825	374 318	719 000	871 249
2017	334 328	433 772	301 207	915 000	870 094
2018	329 783	521 032	312 264	846 021	893 940

2.2. Méthodes expérimentales

2.2.1. Caractérisation des matières premières

La distribution granulométrique de l'argile BAM a été réalisée à l'aide de deux méthodes. La fraction la plus grossière (>80µm) a été analysée par tamisage humide et la fraction la plus fine (<80µm) par les méthodes de sédimentation selon les normes NF P 94-056 [14] et NF P 94-057 [15].

La composition chimique de l'argile BAM a été déterminée par fluorescence des rayons X. La perte au feu a été obtenue par calcination de l'échantillon jusqu'à une température de 1000°C. Les phases cristallines de l'argile et des coques d'arachide ont été identifiées à l'aide du diffractomètre Siemens D5000 équipé d'une lampe monochromatique à anticathode de cobalt et utilisant la raie Kα (λ = 1,789 Å).

Les spectres infrarouges de l'échantillon BAM et des coques d'arachide ont été réalisés avec un spectromètre de type PERKIN ELMER FT-IR BX fonctionnant dans la gamme de 4000 à 500 cm⁻¹.

Le couplage des résultats de la diffraction des rayons X et ceux de l'analyse chimique élémentaire nous a permis d'évaluer la composition semi-quantitative des phases minérales contenues dans l'échantillon en utilisant la **relation (1)** [14] ci-dessous :

$$T(a) = \sum M_i P_i(a) \quad (1)$$

Avec : T(a) pourcentage en oxyde constitutif de l'élément « a » ;

M_i pourcentage en minérale « i » et

P_i(a) pourcentage d'oxyde de « a » dans « i »

2.2.2. Formulation et caractérisation des BTC

Les deux matières premières ont été broyées jusqu'à une granulométrie inférieure à 210 µm. Différents mélanges (B0, B10, B15, B20, B25, B30, B40) entre BAM et la poudre de CAR ont été réalisés avec des teneurs en poudre de CAR variant entre 0 et 40 % en masse selon le **tableau 2**. Une quantité variable d'eau est ajoutée jusqu'à obtenir une solution légèrement humide. Le mélange obtenu a été stocké dans un sac plastique hermétiquement fermé à température ambiante contrôlée (25°C) pendant 48 h pour permettre le murissement. Le mélange humidifié à masse constante a été introduit dans un moule cylindrique (160 mm x 50 mm) ou prismatique (40 mm x 40 mm x 160 mm) et pressé à l'aide de la presse mécanique uniaxiale PRUFSYSTEME DigiMess M-10. La pression de compactage est de 10 MPa. Les blocs de terre comprimée ont été démoulés sur place puis séchés à l'ombre pendant 21 jours à température ambiante (30 ± 7°C avec une humidité moyenne de 45 ± 5 %) pour éviter l'apparition de fissures. La **figure 1** montre les BTC formulés après séchage à 21 jours.

Tableau 2. Proportion de poudre de CAR et d'argile pour l'élaboration des BTC

Référence	B0	B10	B15	B20	B25	B30	B40
Argile(% en masse)	100	90	85	80	75	70	60
Poudre de CAR (% en masse)	0	10	15	20	25	30	40
Teneur d'eau du mélange (% en masse)	19	21	23	25	26.5	28.5	30.5



Figure 1 : Image photo des BTC après 21 jours

L'observation au microscope électronique à balayage (MEB) et la spectrométrie à dispersion d'énergie (EDS) du faciès de fracture des BTC ont été réalisées à l'aide d'un appareil JEOL 6380 LV équipé d'un détecteur d'électrons rétrodiffusés. Des observations directes ont été faites au MEB en mode sous-vide (pas de métallisation nécessaire, avec une pression de 60 Pa dans la chambre SEM). Les analyses quantitatives élémentaires ont été réalisées par la technique de spectrométrie à dispersion d'énergie (EDS) en utilisant un détecteur Brüker X Flash 6/30.

Les résistances à la compression des BTC ont été étudiées. Les différents essais ont été réalisés selon les normes NF P18 – 406 à l'aide d'une presse hydraulique équipée d'un capteur de force de 10 kN à une vitesse de déplacement contrôlée de 0,2 kN/s.

Les paramètres hydriques qui ont été effectués étaient l'absorption d'eau et le test d'érosion à la pluie. L'absorption d'eau par capillarité des BTC a été évaluée selon les normes NF EN 1015-18 [17]. Le coefficient d'absorption d'eau (C_b) a été calculé à l'aide de la **relation 2**.

$$C_b = \frac{100(P_1 - P_0)}{S\sqrt{t}} \left[\frac{g}{cm^2 \cdot min^2} \right] \quad (\text{Relation 2})$$

P_1 (g) est la masse du BTC après immersion dans l'eau, P_0 (g) la masse du BTC avant immersion dans l'eau, S (cm²) la surface immergée du BTC et t (min) le temps d'immersion.

La résistance du BTC à la pluie a été évaluée par le test de pulvérisation. Pour ensuite, le BTC séché à 105 °C a été incliné à 30° par rapport à la verticale et de l'eau a été pulvérisée sur la surface en fines gouttelettes pendant 10 min sous une pression de 2 bars. Le BTC après le test a été séché à 105°C pendant 24 heures et la différence entre la masse avant et après le test indique la résistance du BTC à l'érosion par la pluie [18].

La conductivité thermique des BTC a été mesurée à l'aide d'une sonde TR-1 (diamètre 2,4 mm, longueur 10 cm, plage de travail 0,1 – 4 W.m⁻¹. K⁻¹ connectée à un analyseur de propriétés KD2 Thermal Pro. La sonde a été introduite dans un trou pratiqué au centre de l'éprouvette afin qu'elle ne soit pas en contact avec l'air. Les mesures ont été faites à environ 32°C.

La masse volumique apparente du BTC a été obtenue par pesée hydrostatique selon les normes NF P 94-053. La porosité fermée du BTC a été déduite des résultats de densité en utilisant la **relation 3**.

$$\eta = \left(1 - \frac{d_s}{d_g} \right) * 100 \quad (\text{Relation 3})$$

Où η est la porosité fermée, d_s la densité du BTC, et d_g la densité de grains (mélange d'argile et de poudre de CAR) calculée selon la **relation 4**.

$$\frac{1}{d_g} = \frac{\% \text{ Argile}}{d_{\text{Argile}}} + \frac{\% \text{ Poudre de CAR}}{d_{\text{Poudre de CAR}}} \quad (\text{Relation 4})$$

3. Résultats et discussion

3.1. Caractéristiques des matières premières

Le diffractogramme aux rayons X de l'argile BAM (**Figure.2**) montre qu'elle est constituée de quartz (SiO_2), de kaolinite ($\text{Al}_2(\text{Si}_2\text{O}_5)(\text{OH})_4$), de goethite ($\alpha\text{-FeO}(\text{OH})$) et de muscovite ($\text{KA}l_2(\text{AlSi}_3\text{O}_{10})(\text{OH})_2$). Les courbes d'analyse thermique (**Figure.3**) montrent un pic endothermique autour de 95 °C associé à une perte de masse de 2,6 % correspondant au départ de l'eau hygroscopique de l'argile. Le pic endothermique à 394 °C associé à une perte de masse de 1,95 % indique la déshydroxylation de la goethite en hématite. Le pic endothermique autour de 510 °C avec une perte de masse de 4,49 % montre la transformation de la kaolinite en métakaolinite. Le petit pic à 574 °C correspond à la transformation du quartz α en quartz β . Le seul pic exothermique à 934 °C correspond à la réorganisation de la métakaolinite en phase spinelle ou mullite.

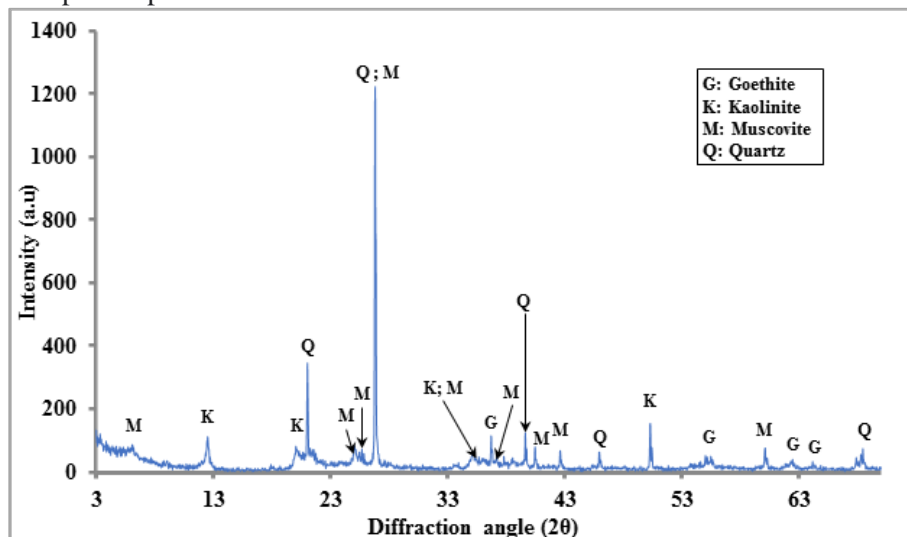


Figure 2 : Diffractogramme aux rayons de BAM

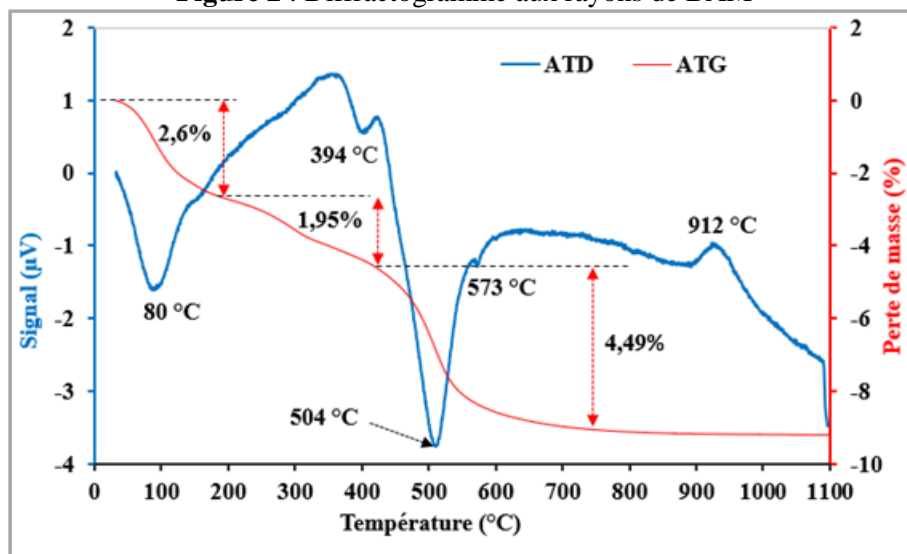


Figure. 3: Thermogrammes ATD et ATG de BAM

Les principaux oxydes de l'argile BAM (**tableau 3**) sont SiO_2 (56,60 %), Al_2O_3 (18,69 %), Fe_2O_3 (9,26 %) et K_2O (0,95 %). L'évaluation semi-quantitative (**tableau 4**) indique que l'argile BAM contient du quartz (34% en masse) et de la kaolinite (40% en masse) comme principales phases cristallines avec une teneur significative en goethite (10% en masse) et muscovite (8% en masse).

Tableau 1: Composition chimique de BAM

Oxydes	SiO_2	Al_2O_3	Fe_2O_3	MnO	MgO	CaO	Na_2O	K_2O	TiO_2	PF	Total
% massique	56,60	18,69	9,26	0,08	0,65	0,44	0,21	0,95	1,32	12,29	100,48

PF = perte au feu à 1000 °C

Tableau III. 2: Bilan minéralogique.

Minéral	Kaolinite	Muscovite	Goethite	Quartz	Balance	Total
% massique	40	8	10	34	8	92

La distribution granulométrique (**Figure. 4**) montre que BAM est composé de 2 % en masse de sable grossier, 16 % en masse de sable fin, 32 % en masse de limon (2-20 μm) et 50 % en masse d'argile (<2 μm). La quantité d'argile est en dehors des limites supérieures des spécifications granulaires proposées par la norme NF XP 13-901 sur le BTC [24]. Cependant, ces courbes de référence sont des données indicatives pour BTC et l'argile que nous avons utilisée dans cette étude est utilisée par la population locale pour la fabrication d'adobes. Il existe en effet d'autres recommandations sur la granularité des sols dans la littérature qui ne font pas toujours consensus (**Jiménez Delgado et Guerrero, 2007**). Par exemple, Hallal et al. (**2018**) ont trouvé un sol naturel contenant 73 % de fines stabilisées avec du ciment pour donner une résistance satisfaisante.

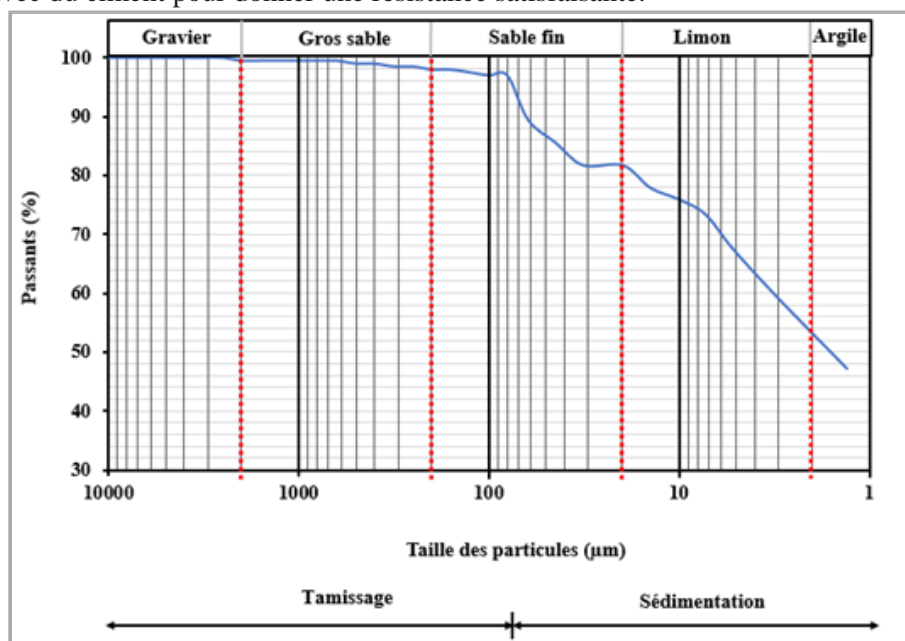


Figure 4: Courbe granulométrique de BAM.

Les limites d'Atterberg : limite de liquidité, limite de plasticité et indice de plasticité sont respectivement $W_L = 45 \%$, $W_P = 23 \%$ et $I_p = 22 \%$. L'indice de plasticité et la valeur du bleu de méthylène (4,44 g/100 g) montrent que BAM est une argile limoneuse de plasticité moyenne. Selon les critères de CRATERRE-EAG [24], l'indice de plasticité et la limite de liquidité montrent que BAM est adapté à la production de BTC.

Les spectres infrarouges (IR) de la poudre de CAR sont rapportés sur la **figure 5**. L'étirement de la liaison O-H et de la liaison C-H respectivement autour de 3345 et 2922 cm^{-1} a été attribué à la cellulose [25] [26]. L'étirement de la liaison C=O à 1603 cm^{-1} était lié au groupe acétyle dans les hémicelluloses ou à l'ester et à l'acide carboxylique dans les hémicelluloses, la lignine ou la pectine. Les étirements C-O à 1165 et 1029 cm^{-1} ont été attribués au groupe aryle de la lignine [27-29]. L'IR des coques d'arachides usagées semble être similaire aux spectres précédents obtenus avec des coques d'arachides d'une autre zone du Burkina Faso [30].

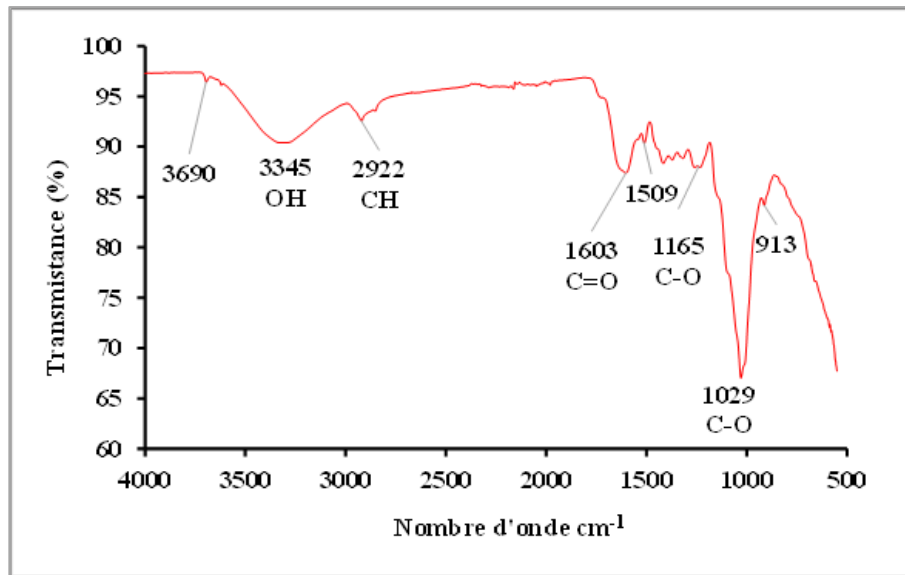


Figure 5 : Spectre infrarouge de coques d'arachide

Le diffractogramme de la poudre de CAR (Figure 6) montre le pic principal à $2\theta = 26,58^\circ$, qui correspond à d_{002} de la cellulose de type I, montrant que la cellulose de type I est la phase cristalline principale dans la poudre de CAR. La présence d'un pic à $12,30^\circ$; 23° ; $26,58^\circ$; $34,84^\circ$; $40,40^\circ$ et $50^\circ 2\theta$ corroborent le fait que la cellulose de type I est la phase cristalline recherchée dans les coques d'arachide. Les pics à $2\theta = 21^\circ$ et 23° respectivement pour un plan $(1\bar{1}0)$ et (110) sont très distincts et montrent que la cellulose d'arachide a une cristallinité élevée [31]. L'indice de cristallinité de la cellulose est estimé dans l'équation 5, à partir de la formule empirique de Segal [32]. Où, I_{002} l'intensité du pic de diffraction à $2\theta = 25,8^\circ$ et I_{am} l'intensité du pic de diffraction à $2\theta = 18,68^\circ$ [33].

$$I_c = \frac{I_{002} - I_{am}}{I_{002}} \times 100$$

(Equation 5)

L'indice déterminé de 70 % est très élevé et indique que la cellulose est très ordonnée, ce qui justifie la meilleure qualité du diagramme de diffraction des rayons X. Ce résultat est différent de l'indice trouvé avec la coque d'arachide dans l'étude précédente de Bobet et al.[30], et cette valeur était de 28,47 %. La différence peut s'expliquer par la différence entre la variété dans la culture des arachides dans les deux zones.

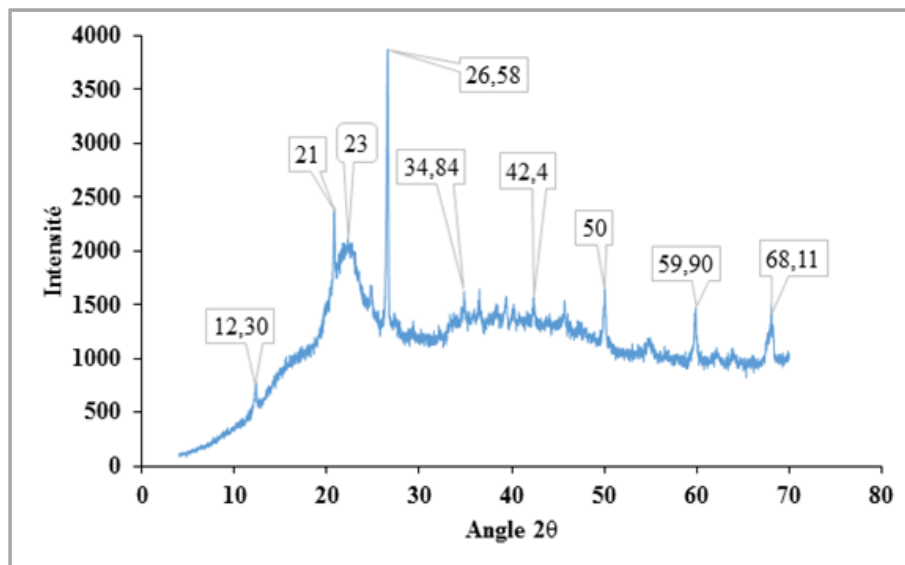


Figure 6 : Diffractogramme des rayons X des coques d'arachide

3.2. Microstructure des BTC

L'image MEB de la surface fracturée des BTC, après le test de compression, est donnée en **Figure.7-a**. La référence B0, sans PSP, montre un matériau homogène et dense. Cependant, des micro-fissures sont observées soit dues au départ d'eau, soit à l'effort appliqué lors de l'essai de compression. Le B15 est également homogène avec quelques microfibrilles trempées dans la matrice du sol. Avec 25% en masse de poudre de CAR, le matériau (B25) devient hétérogène avec des microfibrilles bien adhérentes à la matrice du sol. Avec 35% en masse de poudre de CAR, le matériau obtenu (B35) est très hétérogène avec un empilement de microfibrilles par emplacement.

L'image SEM (**Figure. 7-b**) du BTC contenant 30% en masse de poudre de CAR au grossissement x100 montre une meilleure adhésion entre la matrice du sol et la microfibrille de poudre de CAR. Cependant comme le montre le matériau B35, le matériau B30 obtenu présente un aspect moins dense. L'analyse chimique élémentaire pour deux zones de la surface fracturée de B30 n'a pas présenté de différence significative. Les principaux éléments sont Si, Al et Fe. La présence d'élément sulfurique S à teneur relativement élevée dans la zone référencée '53' par rapport à la zone '52' est intéressante. L'élément S apporté par les coques d'arachide peut participer à la formation de liaisons entre molécules qui peuvent améliorer les propriétés mécaniques du BTC [34]

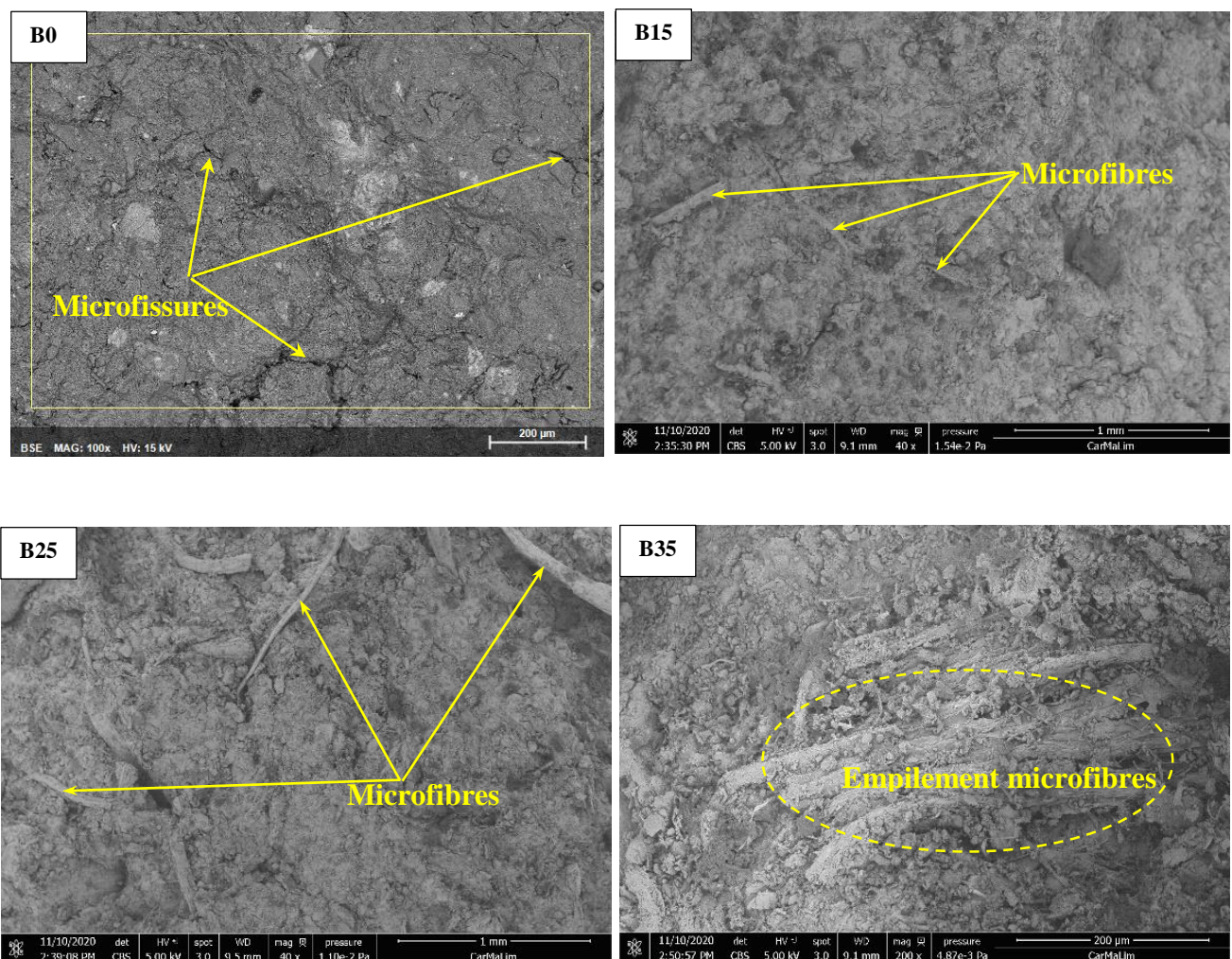


Figure 7-a. Images MEB des faciès de BTC: B0, B15, B25, B35.

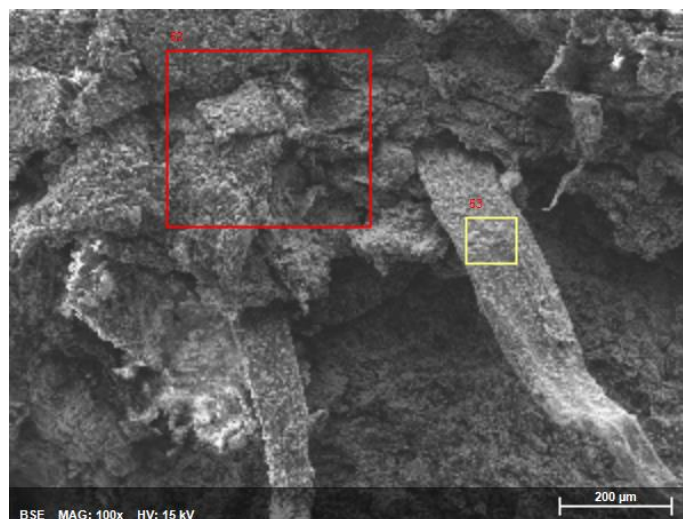


Figure 7-b. Image MEB du B30.

Zone	Si	Al	Fe	K	Ti	Ca	Mg	S	Na	O
52	19.94	10.39	3.01	1.47	0.45	0.59	0.51	0.12	0.28	63.23
53	17.64	11.74	3.43	1.81	0.76	0.99	0.31	0.29	0.55	62.48

3.3. Propriétés physiques des BTC

La porosité ouverte et la densité apparente du BTC (**Figure. 8**) variaient dans des sens opposés comme prévu. Selon Sore et al [8], plus un échantillon est poreux, plus sa densité est faible et inversement. La densité du BTC a varié de 2010 à 1240 kg/m³ avec une teneur en poudre de CAR passant de 0 à 40 %. Lorsque la teneur en poudre de CAR augmente, la densité en BTC diminue. La substitution de la terre crue (densité 2570 kg/m³) par les coques d'arachide (densité 1400 kg/m³), moins denses, justifie la réduction de densité. Communément, la densité du BTC variait entre 1500 et 2000 kg/m³ [35]. Au-delà de 20 en masse de poudre de CAR, la densité du BTC était légèrement inférieure aux valeurs courantes. Il convient de noter que l'utilisation de 20% en masse de poudre réduit significativement la densité du BTC à 23 %. Une réduction similaire (environ 25 %) a été rapportée par Khoudja et al [36] lors de la stabilisation de l'adobe avec 10 % de déchets de palmier dattier. Sore et al [8] ont stabilisé le BTC à l'aide de ciment et de géopolymère et ont trouvé une densité comprise entre 1600 et 1900 kg/m³. Mansour et al [37] ont obtenu un BTC caractérisé par une densité variant entre 1320 et 2190 kg/m³ lorsque la pression de compactage variait de 0,39 à 3,16MPa. La densité du BTC selon des études antérieures dépend de la pression appliquée pour le compactage, de la nature du sol et de la nature de l'additif. L'utilisation de coques d'arachide sous forme de poudre et à un pourcentage relativement élevé explique les faibles valeurs de densité obtenues par rapport à celles trouvées dans la littérature.

La porosité ouverte du BTC augmente avec l'augmentation de la teneur en poudre de CAR et varie de 25,40 à 54,07 %. Quant à la densité, les valeurs de porosité du BTC corroborent celles rapportées dans l'étude précédente, pour une teneur en poudre de CAR inférieure ou égale à 20 %. Lawane et al [38], dans leur étude sur les propriétés mécaniques et physiques des blocs de mâchefers comprimés stabilisés avec inclusion de sols latéritiques, ont obtenu un BTC caractérisé par une porosité comprise entre 33 et 40 %. Sore et al [9] ont rapporté une porosité de 37,63 % pour le CEB stabilisé avec 15 % de géopolymère. L'augmentation de la porosité est attribuable à la porosité intrinsèque de la poudre de CAR et à son effet entraîneur d'air lors de la formulation qui contribue à augmenter le nombre de pores ouverts accessibles à l'eau. Selon Ouattara et al [39], la stabilisation du BTC avec 10% en masse de sciure de bois crée des pores plus interconnectés qui facilitent l'écoulement de l'eau. Avec 20% en masse de poudre de CAR, la porosité du BTC augmente d'environ 67% et pour 35% en poudre de CAR, la porosité du B-CEB est légèrement supérieure au double de celle de la référence.

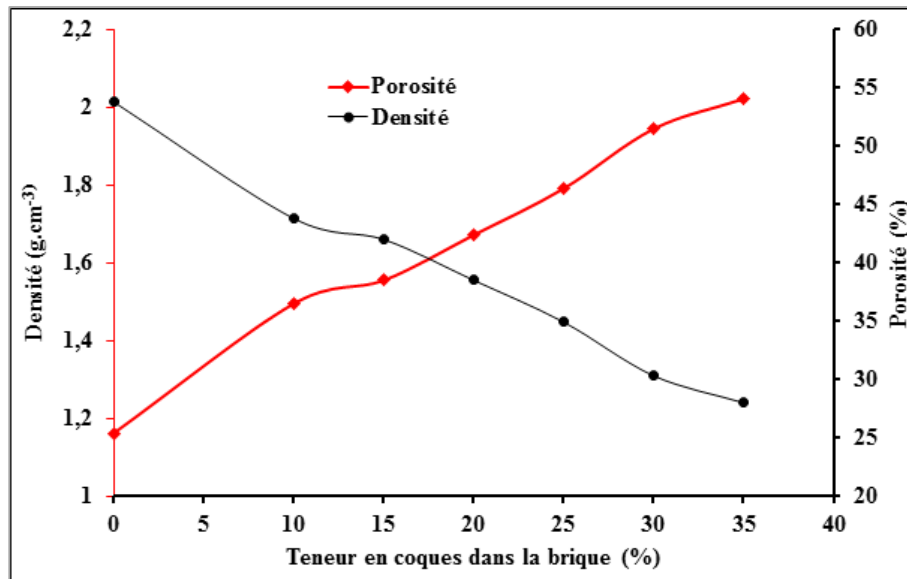


Figure 8: Evolution de la porosité fermée des BTC en fonction de la teneur des coques d'arachide

3.4. Propriétés mécaniques des BTC

Le test de compression simple est un test important pour prédire la qualité de la brique. La résistance mécanique à la compression des BTC est donnée par la **figure 9**. La résistance à la compression augmente avec l'augmentation de la poudre de CAR jusqu'à 20 %. L'utilisation de 20 % de poudre de CAR comme additif dans le BTC augmente la résistance mécanique d'environ 23 %. Passé ce pourcentage, la résistance à la compression diminue jusqu'à atteindre la valeur inférieure à la résistance de référence (B0). L'augmentation de la résistance à la compression est due à l'effet de remplissage combiné de la particule plus fine de poudre de CAR et à l'effet de renforcement de la microfibre contenue dans la poudre de CAR. L'effet de remplissage de la particule plus fine de poudre participe à la réduction de la porosité du BTC. La microfibre supporte une partie de la force appliquée lors du test de compression et améliore les performances mécaniques du BTC. Pour des teneurs élevées en poudre de CAR, la microstructure du BTC devient très hétérogène avec empilement ou regroupement de la poudre de CAR aux endroits indiqués sur l'image MEB et créant une forte porosité et une faible densité qui entraîne une diminution de la résistance mécanique.

Selon la norme africaine ARS 674 [40], tous les BTC élaborés, à l'exception du B40, sont dans la catégorie de la construction de mur porteur qui se caractérise par la résistance supérieure à 4 MPa. La résistance de tous les BTC est corroborée par l'étude précédente qui indique que la résistance du bloc de terre comprimée se situe dans une plage de 0,4 à 5 MPa. Les résistances obtenues sont intéressantes car elles sont du même ordre que les résistances obtenues pour le BTC stabilisé au ciment. Bahar et al [41] ont obtenu la résistance entre 4,5 et 6,5 MPa avec 10 ou 20 % de ciment comme additif. Dans le même ordre, Touré et al [42] ont obtenu des résistances autour de 2,5 à 3,5 MPa avec 8 % de ciment.

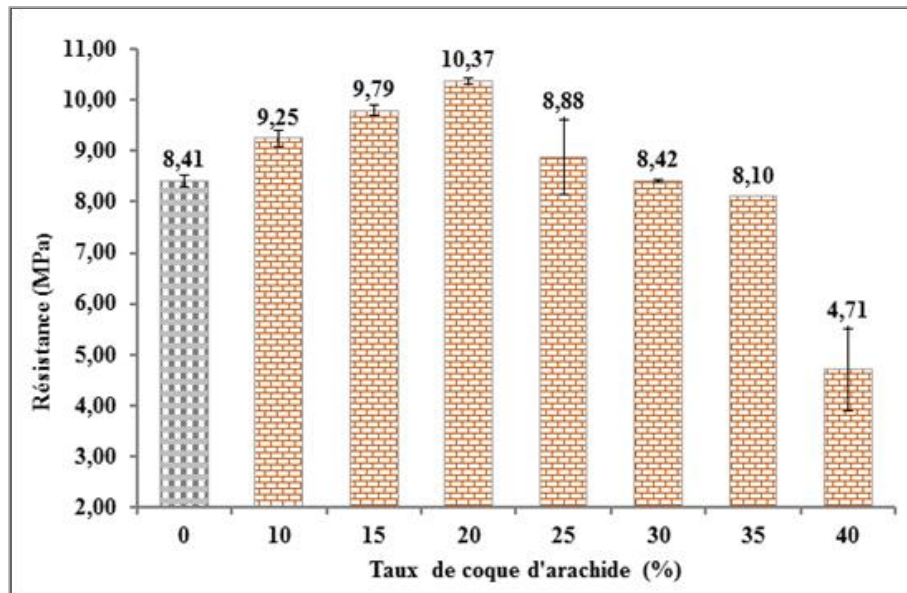


Figure 9 : Résistance à la compression des différentes formulations de BTC

Les courbes charge-déformation des différentes briques ont été enregistrées (**Figure.10**) pour évaluer l'influence de la poudre de coques d'arachide sur le comportement de la brique lors de l'essai de compression. Les courbes ont montré que la poudre de CAR influençait le comportement du BTC avant et après la défaillance. Le déplacement des courbes charge-déformation avec l'ajout de poudre de CAR indique que le comportement mécanique des briques est fortement influencé. Deux zones peuvent être observées sur les courbes avec l'ajout de poudre. La première zone correspond au comportement élastique de BTC et la deuxième zone correspond au comportement plastique de BTC. On constate que la casse du BTC non adjuvé (sans poudre de coque d'arachide) est très rapide et quasiment sans avertissement. En revanche, dans le cas des BTC avec de la poudre de coque d'arachide, il a été noté qu'une fois la charge de rupture atteinte, les échantillons se déformaient davantage. Cela peut être dû à la répartition des forces internes de la matrice du sol vers les poudres de coque d'arachide de renforcement. On note également que l'introduction de fibres dans le mélange diminue la fragilité du bloc, donc elles augmentent sa ductilité. Ceci s'explique par le fait que le BTC sans poudre de CAR présente une certaine fragilité car il présente une rupture brutale sans reprise juste après avoir atteint la contrainte maximale. Cette rupture survient après une propagation catastrophique de fissures issues de défauts (fig.7-a B0). Avec l'incorporation des coques d'arachides, on observe un premier pic de cassure correspondant à une cassure partielle de la matrice argileuse accompagné d'un deuxième pic correspondant à la cassure totale de la matrice argileuse. Ce phénomène est fortement accru avec une teneur élevée en coques d'arachide (10 à 30%) dans le BTC se manifestant par au moins un pic de rupture après celui de la matrice argileuse. Ainsi, en plus d'augmenter la résistance finale à la compression, les coques d'arachide confèrent au BTC une certaine ductilité qui lui permettra de tenir un peu après des chocs importants [43]. Avec l'augmentation de la poudre de CAR, le caractère rigidité du BTC se réduit pour donner un matériau ductile. Le caractère ductile du BTC permet d'avoir un gain de résistance résiduelle. La déformation ultime (0,92 - 8,49 mm) augmente avec l'augmentation de poudre de CAR et montre une augmentation des propriétés élastiques de BTC lorsque la teneur en poudre de CAR augmente (fig.9). Le BTC montre un déplacement important avant la rupture. Les différents comportements corroborent le résultat de nombreux chercheurs tels que Khoudja et al [35], Omrani et al [44].

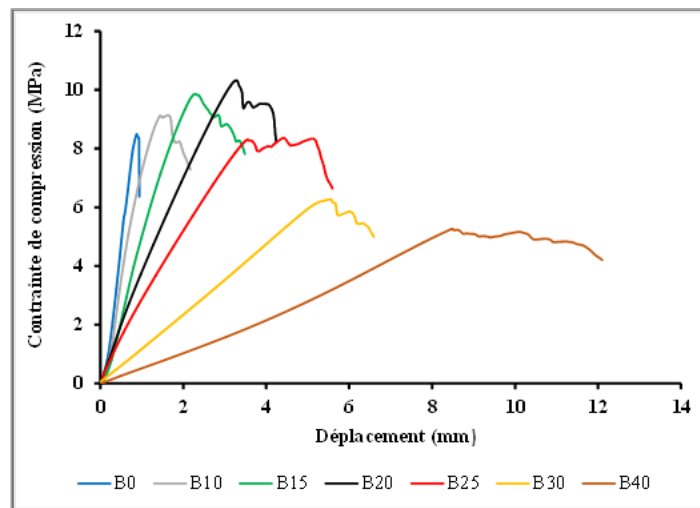


Figure 10 : Courbes de contrainte-déplacement en compression des BTC élaborés

3.5. Comportement hydrique des BTC

Le comportement hydrique des BTC est un aspect important de leur acceptabilité en construction. Le BTC peut subir une désagrégation plus ou moins sévère selon sa qualité sous l'effet de la pluie. L'impact de la pluie sur les BTC a été évalué par le test d'érosion dit "spray test". **La figure 11** présente la perte de masse des BTC après le test de pulvérisation. A l'exception du B10, tous les BTC amendés avec la poudre de CAR montrent une perte de masse plus faible que celle de la référence. Ce résultat est lié à la microstructure des BTC. Avec la plus faible teneur en poudre de CAR, la microstructure du BTC est homogène. A forte teneur en poudre de CAR, le matériau est hétérogène avec un fort réseau de coques d'arachide qui confère à la brique une résistance importante à l'érosion, compte tenu de ses propriétés collantes et des possibilités de formation de liaison par pont hydrogène entre les celluloses, les hémicelluloses, les polyphénols dans la poudre de CAR avec le sol minéral phases (kaolinite, muscovite) ou ions (Fe^{2+} ou Fe^{3+}) [45]. La dispersion de la poudre dans toute la matrice de la brique constitue une barrière ou des supports réduisant la dégradation de la brique due à la présence de fines particules et de microfibrilles.

L'image photo du BTC après essai de pulvérisation (**Figure 12**) a montré une meilleure contribution en poudre de CAR sur la résistance à l'eau du BTC élaboré.

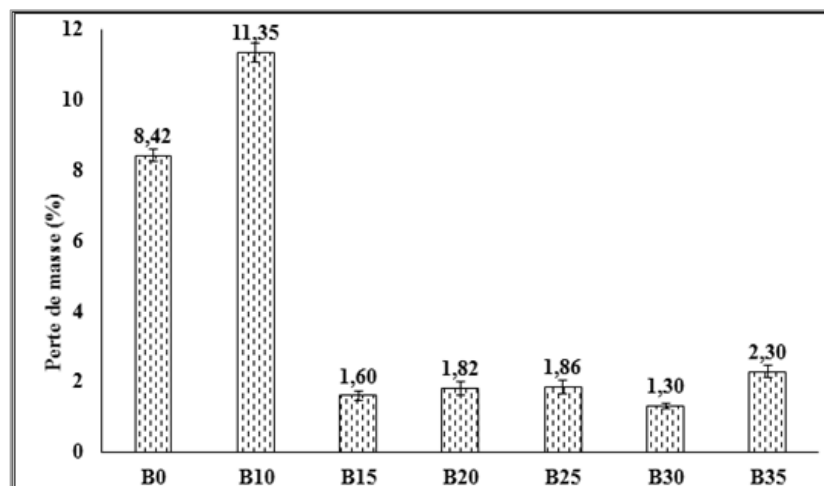


Figure 11: Perte de masse après le test d'érosion pluvieuse



Figure 12 : Image des BTC après érosion pluvieuse

Le coefficient d'absorption d'eau par capillarité (C_b) des BTC en fonction de la teneur en poudre de CAR est présenté dans le **tableau 5**. Le coefficient a varié entre 15,5 et 38,3 $\text{g/cm}^2 \cdot \text{min}^{1/2}$. Selon la norme NF- XP 13-901[24], les BTC B0 et B10 ont une très faible capillarité ($C_b \leq 20 \text{ g/cm}^2 \cdot \text{min}^{1/2}$), et les autres BTC ont une faible capillarité ($C_b \leq 40 \text{ g/cm}^2 \cdot \text{min}^{1/2}$). En général, le coefficient d'absorption capillaire augmente lorsque la teneur en poudre de CAR augmente dans la brique. L'augmentation du coefficient avec la teneur en poudre de CAR est due à l'augmentation de la teneur en cellulose d'une part et à l'augmentation des vides créés par les fibres d'autre part. La cellulose a un caractère hydrophile, ce qui induit une augmentation de l'absorption d'eau par capillarité suite à l'augmentation de la quantité de poudre de coques d'arachide. Aussi, l'augmentation de la porosité suite à l'ajout de la poudre de CAR est une autre cause de l'augmentation du coefficient d'absorption d'eau. Selon Limami et al [46], la teneur élevée en poudre de CAR dans la matrice du sol provoque plus de floculation, ce qui augmente l'espacement entre les couches dans la brique et augmente la porosité.

L'érosion se produit généralement à la surface des briques, mais peut se produire par infiltration d'eau à travers les fissures et les pores extérieurs. L'ajout de coques d'arachide est très bénéfique pour le BTC, améliorant sa résistance à l'érosion. Ils doivent cependant être utilisés dans la gamme de 15 à 30% en masse de terre.

Tableau 5. Coefficient d'absorption d'eau des BTC

BTC	B0	B10	B15	B20	B25	B30
$C_b (\text{g/cm}^2 \cdot \text{min}^{0.5})$	15,5	19,5	27,8	22,8	22,7	38,3

3.6. Comportement thermique des BTC

La **figure 13** montre l'influence des coques d'arachide sur la conductivité thermique des BTC. La conductivité thermique diminue (1,44 - 0,76 W/m.K) lorsque la quantité de poudre de coques d'arachides augmente (0 - 40 % en masse) dans le BTC. Ce phénomène de diminution de la conductivité thermique est dû à la propriété intégrale de la cellulose des coques d'arachides qui a un caractère isolant thermique. La substitution d'une partie d'argile par des coques d'arachides, moins denses, contribue à la diminution de la conductivité thermique. Cette diminution de la conductivité thermique est parfaitement corrélée avec l'augmentation de la porosité dans le BTC. La conduction thermique a été ralentie par la présence de vides remplis d'air à l'intérieur des échantillons et a par conséquent abaissé la conductivité thermique. Un résultat similaire a été constaté par Khedari et al, [47] dans la stabilisation de blocs de terre comprimée renforcée de fibres de coco. Les valeurs de conductivité thermique sont inférieures à celles rapportées par Laibi et al (2,2 - 1,8 W/m.K) [5], sur les blocs de terre comprimée stabilisée par les fibres de kénaf du Bénin. Cette différence peut être liée à la force de compactage utilisée et à la nature ou à la taille ou au pourcentage utilisé des fibres. De plus, les résultats de conductivité thermique obtenus dans cette étude sont supérieurs à ceux des adobes contenant des fibres obtenus par plusieurs chercheurs tels que Bobet et al [48] et Ouedraogo et al. [49]. Cela est dû au fait que les BTC sont moins poreux que les adobes, compte tenu de l'application de la pression de compactage qui augmente la densité apparente et augmente ainsi la conductivité thermique. Globalement, les valeurs de conductivité thermique sont dans

la même fourchette que les valeurs rapportées dans la littérature sur les briques crues ou renforcées de fibres végétales [10]. L'utilisation de 20 % en masse de poudre de CAR réduit d'environ 38,1 % la conductivité thermique du BTC par rapport aux BTC de référence (0 % en poudre de CAR).

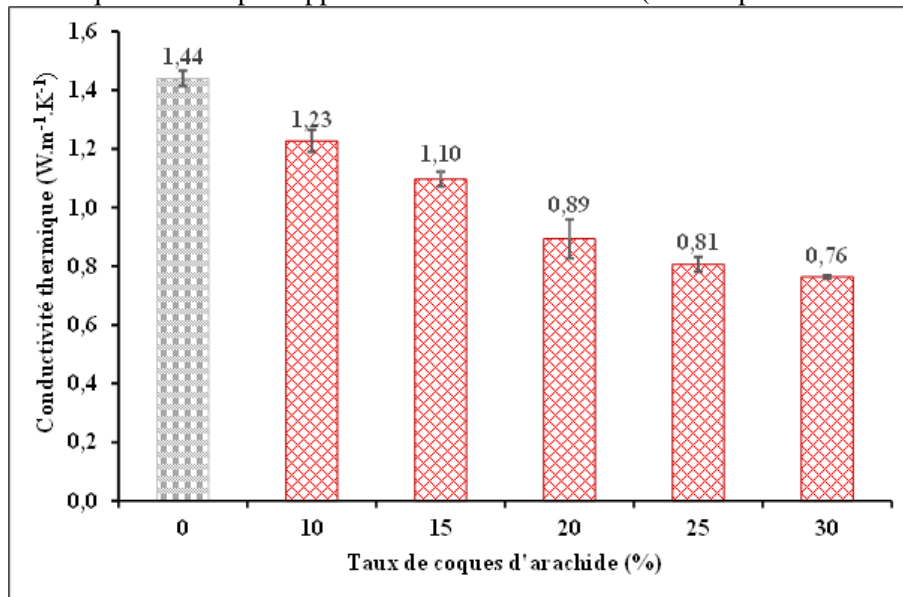


Figure 13: Conductivité thermique des BTC

4. Conclusion

L'influence de la poudre de coques d'arachide (10 à 40% en masse) sur les caractéristiques microstructurales des blocs de terre comprimée produits avec la matière première du sol a été étudiée. Les ajouts de coques d'arachide n'ont pas conduit à la formation de nouvelles phases minéralogiques, mais ont contribué à améliorer certaines propriétés des blocs de terre comprimée comme la résistance mécanique, la résistance à l'eau et la conductivité thermique. La conclusion suivante peut notamment être tirée :

1. L'ajout de poudre de coques d'arachide augmente la porosité ouverte (25,40-57,07%) de la brique de terre comprimée et réduit considérablement sa densité (2,01- 1,24 g/cm³). Au-delà de 20 % de poudre de coques d'arachide les microfibrilles de poudre de coques d'arachide s'empilent et contribuent à augmenter la porosité en augmentant la quantité de vides dans les briques.
2. L'ajout de poudre de coques d'arachide (jusqu'à 20 %) à l'argile brute améliore la résistance à la compression des briques. Au-delà de ce pourcentage, la résistance diminue. Le comportement mécanique est lié à la microstructure de la matrice argileuse après ajout de la poudre de coques d'arachide. L'amélioration de la résistance résulte de l'effet de charge combiné des particules plus fines et de la bonne adhérence entre la microfibrille et la matrice argileuse. La diminution de résistance (au-delà de 20% de poudre de CAR) est liée à l'empilement et à la répartition hétérogène des microfibrilles dans la matrice argileuse. L'utilisation de poudre de coques d'arachide améliore les propriétés de ductilité de la brique de terre comprimée.
3. La résistance à l'eau des briques est améliorée par l'ajout de poudre de coques d'arachides. Lorsque la teneur en coques d'arachides augmente, la perte de masse due à l'érosion diminue, compte tenu de la création d'un réseau de coques d'arachides qui empêche l'érosion du sol.
4. L'absorption d'eau par capillarité du bloc de terre comprimée augmente lorsque la teneur en coques d'arachides augmente en raison du caractère hydrophile de la cellulose contenue dans les coques d'arachides.
5. La conductivité thermique du bloc de terre comprimée diminue lorsque la teneur en poudre de coques d'arachide augmente en raison de la bonne isolation thermique de la cellulose dans la poudre de coques d'arachide.

Du point de vue de la résistance mécanique, de la conductivité thermique et de l'étanchéité, les BTC sont adaptés à la construction d'habitats durables et peuvent potentiellement apporter un meilleur confort thermique. Le contenu des coques d'arachide doit cependant être utilisé dans la gamme de 15 à 25 %. Ce type de construction permettrait de limiter la consommation d'énergie pour la ventilation des

bâtiments dans le but de réduire la pollution atmosphérique liée à la forte production de ciment ou à la surconsommation d'énergie pour refroidir les bâtiments.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] R. Abid, N. Kamoun, F. Jamoussi, H. E. Keki, « Fabrication and properties of compressed earth brick from local Tunisian raw materials Fabricación y propiedades de los ladrillos de tierra comprimida a partir de materias primas locales tunecinas », *Boletín de la Sociedad Española de Cerámica Y Vidrio*, (2021).
- [2] S. O. Sore, A.Messan, E. Prud'homme, G. Escadeillas, F. Tsobnang, « Synthesis and characterization of geopolymer binders based on local materials from Burkina Faso – Metakaolin and rice husk ash », *Construction and Building Materials*, vol. 124 (2016) 301-311. <http://dx.doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2016.07.102>
- [3] A. Ammari, K. Bouassria, M. Cherraj, H. Bouabid, S. C.D'ouazzane, « Combined effect of mineralogy and granular texture on the technico-economic optimum of the adobe and compressed earth blocks », *Case Studies in Construction Materials*, (2017). <http://dx.doi.org/10.1016/j.cscm.2017.08.004>
- [4] K.A. J. Ouedraogo, J-E. Aubert, C.Tribout, G. Escadeillas, « Is stabilization of earth bricks using low cement or lime contents relevant? », *Construction and Building Materials*, (2020). <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2019.117578>
- [5] A.B. Laibi, P. Poullain, N. Leklou, M. Gomina, D.K.C. Sohounhloué ., « Influence of the kenaf fiber length on the mechanical and thermal properties of compressed earth blocks (CEB). », *KSCE J. Civ. Eng.* (2017) 1-9. <http://doi.org/10.1007/s12205-017-1968-9>
- [6] A. Mellaikhafi, A.Tilioua, H.S.M. Garoum, M.A.A. Hamdi, « Characterization of different earthen construction materials in oasis of south-eastern Morocco (Errachidia Province) », *Case Studies in Construction Materials*, 14 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.cscm.2021.e00496>
- [7] I. Sanou, M. Seynou, L. Zerbo, R. Ouedraogo, « Mineralogy, Physical and Mechanical Properties of Adobes Stabilized with Cement and Rice Husk Ash », *Science Journal of Chemistry* (2019). doi: [10.11648/j.sjc.20190701.11](https://doi.org/10.11648/j.sjc.20190701.11)
- [8] O. IZEMMOUREN, A. GUETTALA, « Effet et de la pouzzolane naturelle sur les propriétés mécaniques des blocs de terre comprimée », **22^{ème} Congrès Français de mécanique . Lyon, 24 au 28 Août 2015 (France).**
- [9] S.O. Sore, A.Messan, E. Prud'homme, G. Escadeillas, F. Tsobnang, « Stabilization of compressed earth blocks (CEBs) by geopolymer binder based on local materials from Burkina Faso », *Construction and Building Materials*, 165 (2018) 333-345. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2018.01.051>
- [10] Nshimiyimana, P., Messan, A., Courard, L, « Hydric and durability performances of compressed earth blocks stabilized with industrial and agro by-product binders », *calcium carbide residue and rice husk ash. J Mater Civ Eng*, 33 (2021) 0402-1121. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)MT.1943-5533.0003745](https://doi.org/10.1061/(ASCE)MT.1943-5533.0003745).
- [11] P. Nshimiyimana, S.H. Moussa, A. Messan, L. Courard, « Effect of production and curing conditions on the performance of stabilized compressed earth blocks: Kaolinite vs quartz-rich earthen material. », *MRS Adv*, vol. 5 (2020) 1277–1283.
- [12] B. TAALLAH, A. GUETTALA, A. KRIKER, « Effet de la teneur en fibres de palmier dattier et de la contrainte de compactage sur les propriétés des blocs de terre comprimée », *COURRIER DU SAVOIR*, (2014). <http://dx.doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2014.02.058>

SYNTHESE, CARACTERISATION ET ACTIVITE ANTIOXYDANTE DES COMPLEXES DE LANTHANIDES AVEC UN LIGAND TRIDENTATE BASE DE SCHIFF ET ETUDE CRISTALLOGRAPHIQUE DU COMPLEXES DE CERIUM Ce.

Seydou SANE¹, Mbossé Ndiaye GUEYE², Thierno Moussa Seck¹, Ousmane DIOUF¹, Mohamed Lamine GAYE¹
(Times New Roman 10 gras)

1 université cheikh anta diop de Dakar, SENEGAL.

2 université gaston berger de saint Louis, SENEGAL

* seydou12sane@gmail.com

Résumé : En raison de leur faible toxicité, la chimie des ions lanthanides a été largement étudiée au cours des deux dernières décennies. Leurs utilisations potentielles comme outils de diagnostic en biologie et leurs propriétés paramagnétiques et luminescentes renforcent l'intérêt des chimistes pour ce type de composés. La base de Schiff tridentée de type N₄ a été synthétisée in situ à partir de la réaction de condensation de la 2-hydrazinopyridine et de pyridine-2-carbaldéhyde. Un nouveau complexe de lanthanide (III) a été isolé lorsqu'on a ajouté du nitrate de lanthanide (III) à la solution du ligand. Le complexe a été caractérisés par des spectres IR, des mesures magnétiques à température ambiante, des analyses élémentaires et la structure du complexe de Ce (III) a été déterminée par diffraction des rayons X sur un monocristal. Le complexe cristallise dans le système monoclinique avec le groupe spatial P2₁/c. La géométrie autour du centre métallique montre un prisme trigonal. Il est à noter que la base de Schiff tridentée agit en tant que ligand tridenté conduisant à un complexe à neuf coordonnées ayant des propriétés antioxydantes.

Mots Clés : tridentée ; monoclinique

SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF LANTHANIDE(III) COMPLEXES WITH TRIDENTATE SCHIFF BASE LIGAND. X-RAY CRYSTAL STRUCTURE OF THE Ce(III) COMPLEX

Abstract: Due to their low toxicity, the chemistry of lanthanide ions has been extensively studied over the last two decades. Their potential uses as diagnostic tools in biology and their paramagnetic and luminescent properties [1-5] reinforce the interest of chemists in this type of compounds. The tridentate N₄-type Schiff base was synthesized in situ from the condensation reaction of 2-hydrazinopyridine and pyridine-2-carbaldehyde. A new lanthanide (III) complex was isolated when lanthanide (III) nitrate salt was added to the ligand solution. The complex was characterized by IR spectra, room temperature magnetic measurements, elemental analysis and the structure of the Ce (III) complex was determined by single crystal X-ray diffraction. The complex crystallizes in the monoclinic system with the space group P2₁/c. The geometry around the metal center shows a trigonal tri-fold prism. It is noted that the tridentate Schiff base acts as a tridentate ligand leading to a nine-coordinate complex with antioxidant properties.

Keywords: tridentate; monoclinic

1. Introduction

Suite au besoin croissant des chimistes à mettre en place de nouveaux composés aux domaines d'application divers comme dans le diagnostic en biologie avec leurs propriétés paramagnétiques et luminescentes [1]. Il y a quelques années, des projets concernant les métaux des terres rares ont été lancés pour la recherche de matériaux moléculaires inhabituels [2]. L'utilisation d'une base de Schiff acyclique permet d'introduire deux ions lanthanides identiques ou différents et d'étudier leurs propriétés physico-chimiques [3]. Une attention particulière a été accordée à la recherche d'une base de Schiff acyclique. La formation de ces complexes acycliques dépend de la dimension des cavités, de la flexibilité des bras, de la nature du donneur et des propriétés complexantes des anions agissant comme contre-ions [4]. Cet article est consacré aux complexes homobinucléaires de lanthanides dérivés de 1-(pyridin-2-yl)-2-(pyridine-2-ylméthylène)hydrazine (HL). HL est un ligand acyclique portant des donneurs d'azote et contenant une cavité de coordination qui peut encapsuler de grands ions comme les

lanthanides. Les résultats des études spectroscopiques et de la structure cristalline montrent que le ligand agit en tant que ligand tridenté. La structure de $[\{\text{Ce}(\text{HL})(\text{CH}_3\text{COO})(\text{H}_2\text{O})_2\}_2(\mu\text{-CH}_3\text{COO})_2](\text{NO}_3)_2$ a été élucidée par diffraction des rayons X.

2. Matériel et méthodes

Le 2-hydrazinopyridine, 2-pyridinecarbaldehyde et le nitrate de lanthanide sont d'origine Alfa and Aldrich et ont été utilisés sans aucune purification. Les solvants étaient de qualité réactive et étaient purifiés par les méthodes habituelles. Les analyses pour le carbone, l'hydrogène et l'azote ont été effectués à l'aide d'un instrument LECO CHNS-932. L'analyse infra-rouge était effectuée sur un spectrophotomètre Bruker IFS-66 V ($4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$). La conductivité molaire des solutions 10^{-3} M des complexes métalliques dans du méthanol était mesurée à 25 °C par un conductimètre WTW LF-330. La susceptibilité magnétique à température ambiante des échantillons en poudre ont été mesurés à l'aide d'une balance de susceptibilité magnétique Johnson Matthey scientifique {calibrant $\text{Hg}[\text{Co}(\text{SCN})_4]$ }.

2.1. Synthèse du ligand 1-(pyridin-2-yl)-2-(pyridine-2-ylméthylène)hydrazine ou (HL)

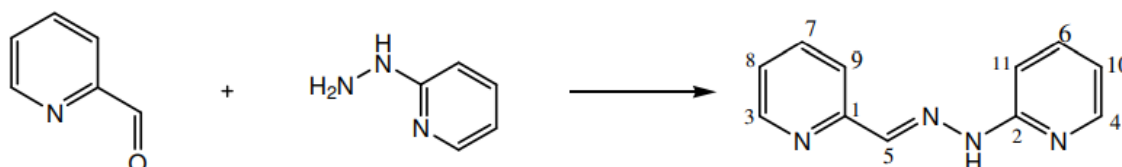


Schéma 2 : réaction de synthèse de HL

Mode opératoire :

Dans un ballon de 100 mL, introduire 0,5 g (4,67 mmol) de pyridine – 2 – carbaldehyde avec 0,51 g (4,67 mmol) d'hydrazinopyridine dissout préalablement dans environ 10 mL de méthanol. On obtient un mélange de couleur jaune clair. Le mélange est porté au reflux pendant 2H. Après refroidissement, on obtient une solution limpide jaune qui est complétée à 100 mL dans une fiole.

Les analyses réalisées sur la solution ont donné les résultats suivants :

IR (DMSO, cm^{-1}) : 3204 (N-H) ; 1635 (C=N) ; 2985,51 – 3172 (C-H).

^1H - RMN (DMSO - d_6 , δ en ppm) : 11,15(1H, S, HN-N) ; 9,25(1H, S, H – C = N) ; 6,79 – 8,76 (8H, m, H pyridiniques).

^{13}C -J-modulé (DMSO – d_6 , δ en ppm) : 156(C1) ; 154(C2) ; 149(C3) ; 148(C4) ; 139(C5) ; 138(C6) ; 137(C7) ; 123(C8) ; 118(C9) ; 115(C10) ; 107(C11).

2.2. Synthèse du complexe de Ce (III) dérivé du ligand HL avec comme co – ligand l'ion carboxylate

Dans un ballon de 100 mL, on introduit 10 mL d'une solution de concentration 10 mM du ligand HL. A cette solution, on ajoute 3 mmol d'acétate de sodium préalablement dissout dans 5 mL d'éthanol sous agitation. Après 10 mn d'agitation, on ajoute 1 mmol de nitrate de lanthanide $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dissout dans 10 mL d'éthanol. La solution jaune obtenue après 30 minute d'agitation à température ambiante est filtrée puis laissée en évaporation lente. Trois jours après, des monocristaux colorés sont récupérés et analysés par diffraction des rayons X. Les analyses effectuées sur ces précipités ont donné les résultats suivants :

$[\text{C}_{30}\text{H}_{40}\text{Ce}_2\text{N}_8\text{O}_{12}] \cdot 2(\text{NO}_3)$.

IR (cm⁻¹): 3225 (νOH), 1588 (νPy), 1575 (νC=N), 1558 (ν_{as} (COO⁻)), 1445 (ν_s (COO⁻)), 1365 (ν (NO₃⁻)), 820 (δOH (H₂O)).

Rendement : 55 %.

Anal. calc. C, 32,49; H, 3,64; N, 12,63.

Trouvé: C, 32,41; H, 3,69; N, 12,86 %.

μ_{eff} (μB): 5, 02.

Λ_M (S.cm².mol⁻¹): 90.

P.F: 230°C. Cristaux jaune–orange.

3. Résultats et discussion

3.1. Étude du ligand HL

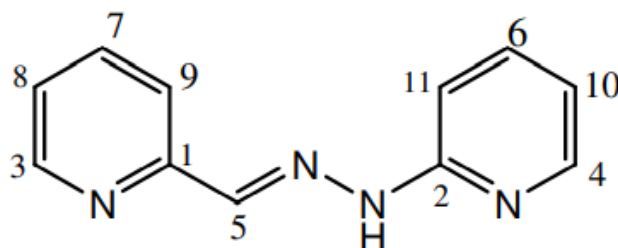


schéma 3 : structure du ligand HL

3.1.1. Étude du spectre infrarouge du ligand HL

Le spectre IR du ligand HL pris dans du KBr, présente dans la zone des hautes fréquences une large bande d'absorption d'intensité moyenne 3204 cm⁻¹. Cette bande est attribuée à la vibration moyenne ν(N–H). La bande à 1635 cm⁻¹ est attribuée à la vibration ν (C=N) [1]. Les bandes pointées dans la région de 1595 à 1576 cm⁻¹ sont attribuées aux vibrations ν(C=C) pyridine [2].

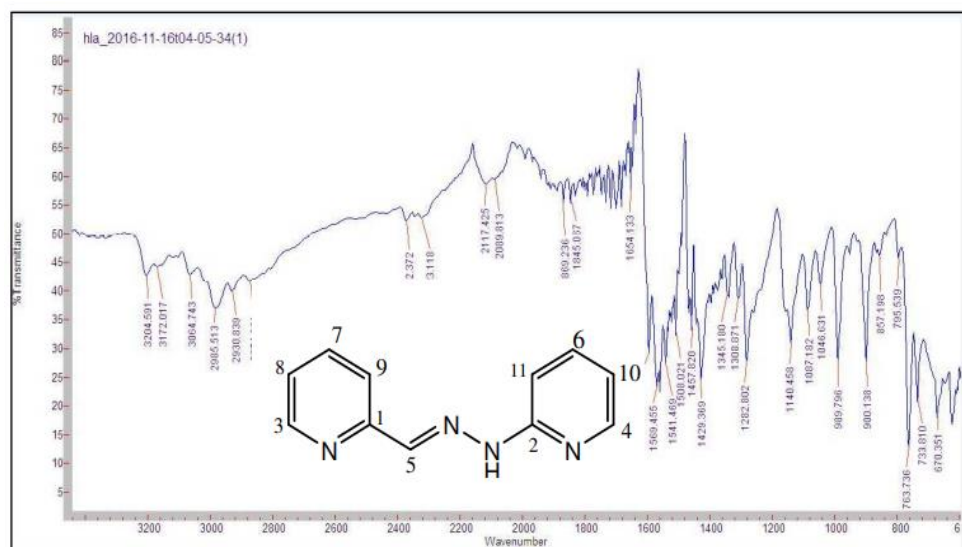


Figure 6 : spectre IR du ligand HL

3.1.2. Étude du spectre RMN du 1H

Le spectre RMN 1H du proton du ligand HL est représenté ci-dessous. Il révèle un signal à 11,185 ppm sous forme de singulet intégrant 1H correspondant au proton HN–N. Il révèle également un signal à 8,542 ppm sous forme de doublet intégrant 1H correspondant au proton du groupe H(3) – pyridine. Un signal est aussi observé à 8,159 ppm sous forme de doublet intégrant 1H correspondant au proton H(4)

– pyridine. Un signal sous forme de singulet intégrant 1H est noté à 8,144 ppm ; ce signal correspond au proton iminique H(5). On observe également un signal à 7,972 ppm sous forme de doublet intégrant 1H correspondant au proton H(9) – pyridine. Un doublet dédoublé de 1H est noté à 7,823. Il correspond au proton H(7) – pyridine. Un signal sous forme de multiplet correspondant au proton H(8) – pyridine est également noté à 7,766 ppm. Un signal à 7,313 ppm sous forme de doublet dédoublé intégrant 2H correspondant aux protons H(11) – pyridine, est noté. Enfin, on observe un signal à 6,820 ppm sous forme de doublet intégrant 1H correspondant au proton H(6) – pyridine.

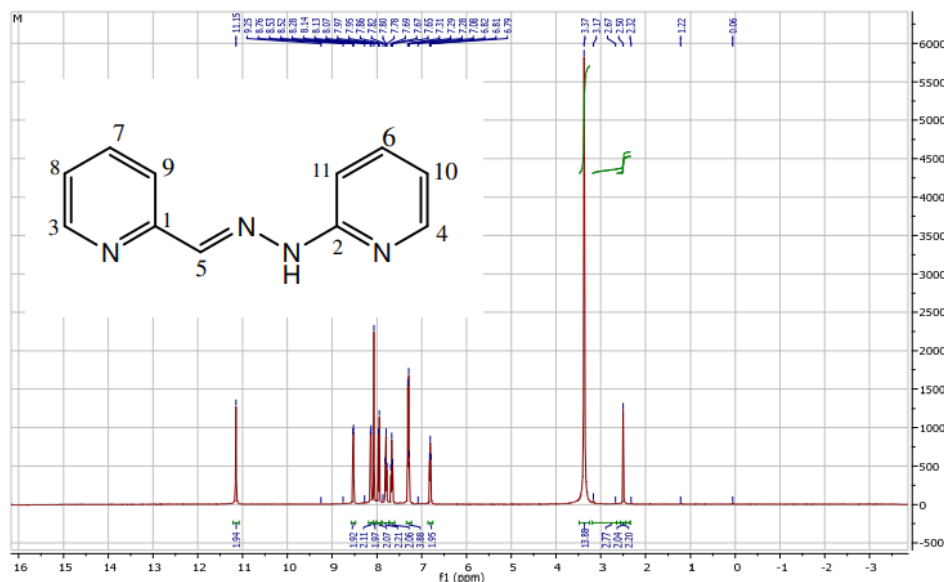


Figure 7 : Spectre RMN ¹H du ligand HL

3.1.3. Étude du spectre J-modulé

Les spectres ¹H, ¹³C et J – modulé DMSO – d₆ du ligand HL (tableaux 6 et 7), montre 11 signaux donc tous les atomes de carbone sont présents. Les carbones quaternaires C – 1 et C – 2 sortent du même côté respectivement à 156,660 et 154,257 ppm. Les atomes de carbone C – 3, C – 4, C – 5, C – 6, C – 7, C – 8, C – 9, C – 10, C – 11 sortent aussi du même côté respectivement à 149,18 ; 147,798; 139,164; 137,989; 136,422; 122,878; 118,810; 115,528 et à 106,500 ppm.



Figure 8 : spectre J-modulé de HL

Tableau 1 : Attributions des signaux des spectres RMN du ¹H et ¹³C du ligand HL

δ_H (ppm)	multiplicité	nbre de protons	Attribution	δ_C (ppm)	Attribution
11,15	s	1H	H(N-H)	156–154	C1–C2
9,25	s	1H	H(C=N)	149–148	C3–C4
6,79–8,76	m	8H	H pyridine	139–138	C5–C6
				137–123	C7–C8
				118–115	C9–C10
				107	C11

3.2. Etude du complexe

3.2.1. Étude par infrarouge

La bande acétate large repérée sur le spectre est certainement due à la somme des bandes de vibration des liaisons $\nu(\text{OH})$ des molécules d'eau libres et coordonnées. On observe également une bande nette à environ 825 cm^{-1} due à la déformation des liaisons O–H dans les molécules d'eau [3]. Nous observons sur tous les spectres des complexes le déplacement de la bande de vibration de la liaison $\nu(\text{C}=\text{N})$ qui apparaissait à 1635 cm^{-1} sur le spectre IR du ligand libre comme cela est observé dans la littérature [4]. Sur le spectre du cérium cette bande apparaît vers 1602 cm^{-1} . La coordination du ligand via l'atome d'azote de l'azométhine entraîne une diminution de la constante de force de liaison du groupement C=N. Ainsi, la fréquence de la vibration de la liaison C=N diminue lors de la coordination comme observé. Cette bande est repérée à 1575 cm^{-1} sur tous les spectres des complexes synthétisés. Ce fait montre que l'atome d'azote iminique est coordonné au métal. En comparant le spectre IR du complexe et celui du ligand libre, nous remarquons l'apparition de nouvelles bandes de vibration entre 1555 et 1365 cm^{-1} [5].

3.3. Étude cristallographique

Le complexe dinucléaire de Cérium Ce cristallise dans un système monoclinique avec un groupe spatial $P2_{1/c}$. Le polyèdre de coordination de autour de l'ion de Ce^{3+} est représenté à la figure 5. Les distances interatomiques, les angles et les liaisons hydrogènes sont listés dans les tableaux 2, les paramètres de maille sont : $a = 11,1127$, $b = 17,9877$, $c = 11,9542$; $\alpha = 90,00^\circ$, $\beta = 114,740^\circ$. La structure cristalline de ce complexe est compatible avec la formule $[\{\text{Ce}(\text{HL})(\text{CH}_3\text{COO})(\text{H}_2\text{O})_2\}_2(\mu\text{-CH}_3\text{COO})_2].(\text{NO}_3)_2$. L'environnement autour de l'ion Ce^{3+} est décrit comme un prisme trigonal déformé.

Lorsque l'acétate est bidentate chélatant, les longueurs de ces liaisons sont comprises entre $2,556(2) \text{ \AA}$ et $2,582(2) \text{ \AA}$. Quand l'acétate est bidentate pontant, les longueurs de ces liaisons varient entre $2,428(2) \text{ \AA}$ et $2,454(2) \text{ \AA}$.

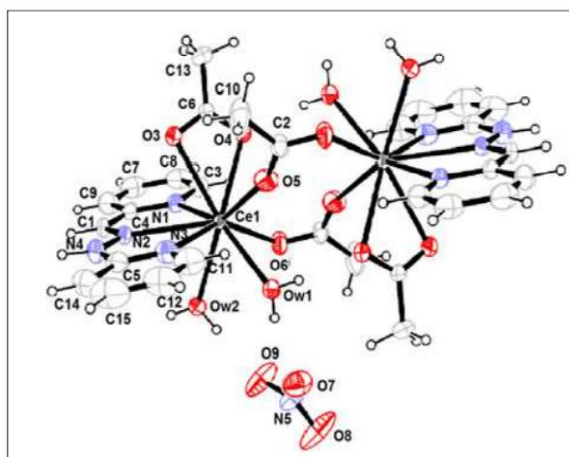


Figure 9 : structure cristalline du complexe de Ce

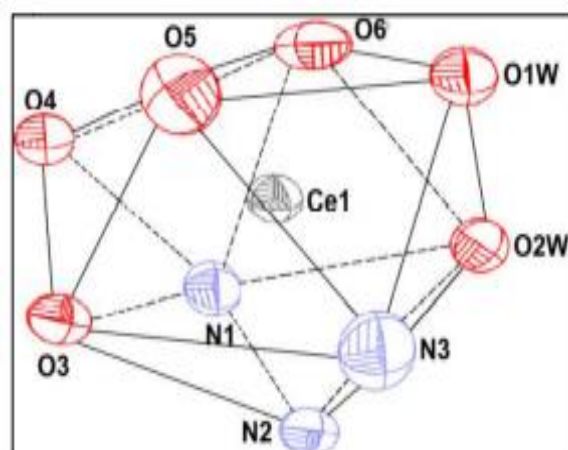


Figure 10 : Schéma montrant la sphère de coordination de Ce

Tableau 2 : Tableau des données cristallographique de Ce

Formule chimique	$C_{30}H_{40}Ce_2N_8O_{12} \cdot 2(NO_3)$
Couleur/forme	jaune/prisme
Masse molaire ($g \cdot mol^{-1}$)	1108,96
Système cristallin, groupe d'espace	monoclinique, $P2_1/c$
Température (K)	293
Taille du cristal (mm \times mm \times mm)	0,10 \times 0,08 \times 0,07
a, b, c (Å)	11,1127 (9) ; 17,9877 (15) ; 11,9542 (10)
β (°)	114,740 (8)
V (Å^3)	2170,2 (3)
Z	2
Densité calculée ($g \cdot cm^{-3}$)	1,697
μ (MoK α) (mm^{-1})	2,15
λ (Å)	0,71073
F (000)	1100
Contraintes	7
Nombre de réflexions mesurés	19702
Nombre de réflexions indépendantes	4936
Nombre de réflexions observées [$I > 2\sigma(I)$]	4583
Paramètres affinés	288
Indice final R	R1 = 0,0237 ; wR2 = 0,0601
Indice R (toutes données)	R1 = 0,0264 ; wR2 = 0,0590
GOF	1,10

3.4. Etude de l'activité antioxydante

Pour évaluer l'activité antioxydante des composés organiques ou inorganiques, la méthode de balayage DPPH[•] est largement utilisée dans la littérature. Les activités antioxydantes du ligand HL et de ses complexes ont été étudiées de manière approfondie. L'activité est définie par l'indice de la réduction de l'activité antiradicalaire en pourcentage I% ou RSA% (Radical Scavenger Activity).

Les essais ont été effectués en triplicata. L'acide ascorbique a été utilisé comme témoin positif. L'effet antioxydant du DPPH[•] est dû à son aptitude à accepter un atome d'hydrogène. Le DPPH[•] est un radical libre instable et accepte un électron ou un radical hydrogène pour devenir une molécule stable (figure6).

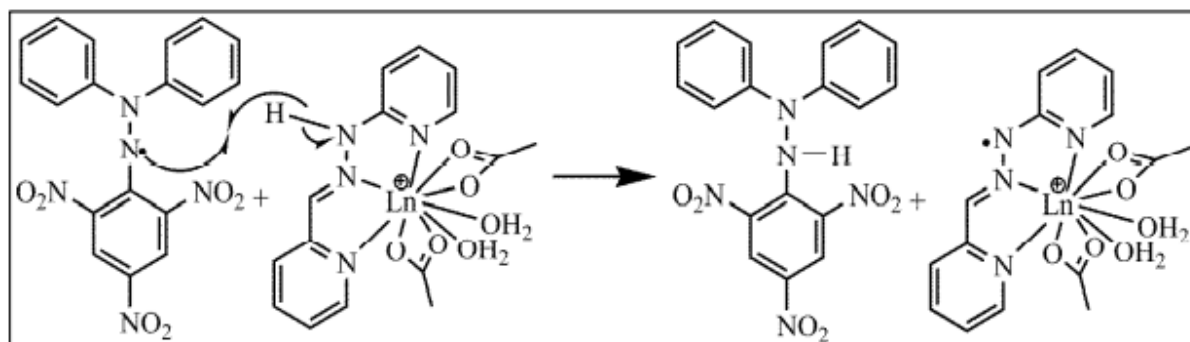


Figure 11 : Mécanisme de l'activité de piégeage du DPPH• par $\{[Ln (HL) (OAc)_2 (H_2O)_2] \cdot NO_3 \cdot H_2O\}$.

Nous avons d'abord étudié l'activité antioxydante du ligand HL. Comme les ions lanthanides sont très utilisés dans le domaine médical, nous avons par la suite, étudié le pouvoir antioxydant des complexes de : Y(III), Er(III), Nd(III), Sm(III), Ce(III), Pr(III) et Gd(III). Ceci, dans le but de voir l'influence de ces ions Ln(III) sur le pouvoir antioxydant du ligand HL. La solution d'alcool de DPPH• est de couleur violette caractérisée par son spectre UV avec un maximum d'absorbance à 517 nm. Sous l'action d'un antioxydant, le DPPH• est réduit en DPPH-H. La cinétique de la réaction varie selon l'antioxydant utilisé. Les courbes des pourcentages d'activités antioxydantes de tous les composés sont tracées en fonction de la concentration de l'échantillon contre le pourcentage de l'inhibition en prenant comme référence l'acide ascorbique. Nous avons, par la suite, déterminé les valeurs d'IC₅₀ graphiquement. Les activités de piégeage en pourcentage des échantillons sont calculées selon la procédure standard. La valeur d'IC₅₀ de l'acide ascorbique est de $0,980 \pm 0,005 \mu M$ tandis que les composés synthétisés éliminent le radical DPPH• avec des valeurs de CI₅₀ de $16,32 \pm 0,03$; $12,05 \pm 0,04$; $10,65 \pm 0,02$; $8,95 \pm 0,01$; $8,01 \pm 0,01$ et $3,72 \pm 0,02$ mA respectivement pour le ligand HL et les complexes Pr, Gd, Y, Er et Ce respectivement. Sur toutes les courbes tracées, nous remarquons que l'activité antioxydante des complexes augmente avec la concentration jusqu'à atteindre un palier. Le complexe du cérium a une plus petite valeur d'IC₅₀. Ce fait montre que ce complexe a un pouvoir antioxydant plus important. Ces données impliquent que l'acide ascorbique a une plus grande capacité à réduire le DPPH• que le ligand HL et ses complexes Ln (III). Lors du criblage de ces résultats, il devient clair que l'effet inhibiteur du ligand et de ses complexes augmente rapidement avec la concentration dans la plage de 0 à 50 μM , comme le montre la figure. En effet, après la complexation, le métal lié à l'atome d'azote de l'azométhine du groupe chromophore C=N–NH exerce un effet de drainage électronique qui rend le lien NH plus polarisé et l'hydrogène tend plus à s'ioniser dans le complexe que dans le ligand libre.

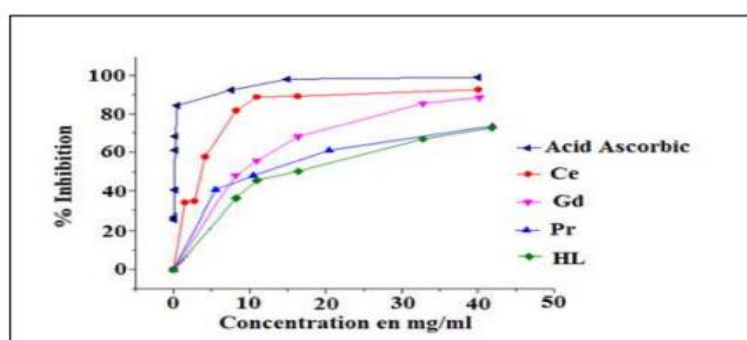


Figure 12 : : Activité antioxydante de l'acide ascorbique (AA), du ligand HL et des complexes Ce (III), Gd(III) et Pr(III) avec HL

4. Conclusion

Un ligand tridenté a été synthétisé et a réagi in situ avec un nitrate de lanthanide et de l'acétate de sodium pour donner des composés binucléaires de lanthanides de Ce, Pr, Gd, et de Er. La caractérisation du complexe de Cérium a été confirmée par la diffraction des rayons X. celle-ci révèle une coordination en neuf avec deux atomes d'azote de pyridine, un atome d'azote de l'imine, quatre atomes d'oxygène de groupes acétate et deux atomes d'oxygène de la molécule d'eau. L'activité antioxydante des complexes

est plus importante et dépendant des concentrations. Notre objectif est de synthétiser des hétéro-polynucléaires avec ce ligand afin d'évaluer l'activité antioxydante.

5. Bibliographie :

- [1]. 122. I. Beloso, J. Castro, J. A. García-Vázquez, P. Pérez-Lourido, J. Romero, A. Souza, *Polyhedron*, 25 (2006) 2673.
- [2]. O. Diouf, Thèse de Doctorat d'Etat ès sciences, UCAD, (2006) 128.
- [3] Nakamoto, K. *Infrared, Raman Spectra of Inorganic, Coordination Compounds*, 3rd ed., Wiley-Interscience, New York, 1978.
- [4] M. T. Kaczmarek, R. Jastrząb, M. Kubicki, M. Gierszewski, M. Sikorski, *Inorg. Chim. Acta* 430 (2015) 108.
- [5] G. B. Deacon, R. J. Phillips, *Coord. Chem. Rev.* 33 (1980) 227.

Etude comparative des caractéristiques physico-chimique, minéralogique et morphologique d'une argile du Niger et de sa fraction argileuse : application à la synthèse des catalyseurs aluminosilicates ZSM-5.

Comparative study of the physicochemical, mineralogical and morphological characteristics of a Niger clay and its clay fraction: application to the synthesis of ZSM-5 aluminosilicate catalysts.

**ADAMOU IBRO Abdourahamane^{1*}, YAO Kouassi Benjamin¹, GUEU Soumahoro¹,
MANZOLA Abdou Salam².**

¹ *Laboratoire des Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles (LAPISEN), INP-HB de Yamoussoukro (COTE D'IVOIRE).*

² *Laboratoire Matériaux, Eaux et Environnement (LAMEE), Faculté des Sciences et Techniques (FAST), Université Abdou Moumouni (UAM) de Niamey (Niger).*

Résumé : Au Niger la valorisation des argiles se limite généralement dans la construction des habitations et la poterie. Ainsi, l'objectif de ce travail est de caractériser une argile brute D₁ et sa fraction argileuse D₂ [1] afin de déceler si leurs caractéristiques physico-chimique, minéralogique et morphologique nous permettrons de les utiliser dans la synthèse des catalyseurs ZSM-5 [2].

Pour ce faire, des analyses aux DRX, FRX, IR, BET et MEB ont été réalisées sur D₁ et D₂ [3].

Celles-ci montrent que D₁ contient la kaolinite, l'illite, la smectite, la chlorite et les impuretés. D₂ contient 81,8% de kaolinite, 14,2 % d'illite et 4% de smectite\chlorite. D₁ présente un rapport SiO₂/Al₂O₃ de 4,054% tandis que celui de D₂ est de 2,134%. Les CEC de D₁ et D₂ sont respectivement 22,8 et 40 méq/100g. Les PAF de D₁ et D₂ sont respectivement 6,30 et 18%. D₁ présente une surface spécifique de 392,508 m²/g, un diamètre des pores de 2,128 nm et un volume des micropores de 0,2201 cm³/g tandis que ceux de D₂ sont respectivement 251 m²/g, 2,100 nm et 0,1267 cm³/g.

D₁ et D₂ peuvent être utilisés pour la synthèse de ZSM-5. Le craquage est envisagé pour tester ces catalyseurs.

Mots clés : Argile, Niger, synthèse, ZSM-5.

Abstract : In Niger the valorisation of clays is generally limited to the construction of houses and pottery. Thus, the objective of this work is to characterize a raw clay D₁ and its clay fraction D₂ [1] to detect if their physicochemical, mineralogical and morphological characteristics will allow us to use them in the synthesis of ZSM-5 catalysts [2].

To do so, DRX, FRX, IR, BET and SEM analyses were performed on D₁ and D₂ [3].

These show that D₁ contains kaolinite, illite, smectite, chlorite and impurities. D₂ contains 81.8% kaolinite, 14.2% illite and 4% smectite\chlorite. D₁ has a SiO₂/Al₂O₃ ratio of 4.054% while that of D₂ is 2.134%. The CEC of D₁ and D₂ are 22.8 and 40 meq/100g respectively. The PAF of D₁ and D₂ are 6.30 and 18% respectively. D₁ exhibits a specific surface area of 392.508 m²/g, a pore diameter of 2.128 nm and a micropore volume of 0.2201 cm³/g while those of D₂ are 251 m²/g, 2.100 nm and 0.1267 cm³/g respectively.

D₁ and D₂ can be used for the synthesis of ZSM-5. Cracking is being considered to test these catalysts.

Keywords : Clay, Niger, synthesis, ZSM-5.

Introduction :

Les catalyseurs zéolitiques, Zeolite Socony Mobil-Five (ZSM-5), sont devenus, au fil des années, les matériaux catalytiques les plus utilisés dans l'industrie du raffinage en raison de leur forte acidité et de leur bonne sélectivité de forme [1–3]. Ils sont utilisés dans plusieurs procédés du raffinage dont l'oligomérisation [4–11] et le craquage catalytique [12–20]. Ce dernier est une opération qui consiste à fragmenter sur un catalyseur acide à une température voisine de 500°C et à basse pression, des hydrocarbures de masses moléculaires élevées situés dans une fraction distillant au-dessus de 350°C environ en hydrocarbures de masses moléculaires plus faibles dont la plus grande partie est constituée par une coupe essence allant de C₅₊ à 200°C ou 220°C [21]. Quant au procédé d'oligomérisation, il consiste à additionner les oléfines entre elles pour produire des essences à haut indice d'octane [21].

Les catalyseurs ZSM-5 peuvent être synthétisés à partir des matériaux industriels comme le Tetrapropylammonium (TPA), la silice industrielle (LUDOX HS-40) et l'Isopropoxyde d'aluminium où ils jouent respectivement le rôle de matrice, d'additif offrant la dureté aux catalyseurs et d'additif conférant aux catalyseurs les sites réactionnels [22]. Aux vues du caractère toxique et polluant du TPA pendant la synthèse des catalyseurs ZSM-5 et de sa cherté, les chercheurs se sont orientés vers une alternative beaucoup plus économique et écologique en utilisant les minéraux argileux [23]. C'est ainsi que des chercheurs comme Pan. F et al, 2017 [24] ; Xing.Y et al, 2017 [25] ; Nanzhe et al, 2019 [26]; Yue. Y et al, 2020 [27] et Wu. M et al, 2020 [28] ; pour ne citer que ceux-là ; ont respectivement utilisés de la kaolinite, de l'attapulgitite, de l'illite, de la rectorite et de la palygorskite pour synthétiser les catalyseurs zéolitiques aluminosilicates ZSM-5. La synthèse de ces catalyseurs est réalisée généralement par deux voies : la voie sèche qui n'utilise pas de solvant [29–31] et la voie hydrothermale qui utilise le solvant dans le protocole expérimental [24,26,32]. La méthode hydrothermale reste la mieux indiquée pour la synthèse des catalyseurs ZSM-5, étant donné que le solvant est nécessaire pour une bonne cristallisation de la zéolite ZSM-5 [28].

Le besoin en catalyseurs de raffinage du Niger et du Nigeria ne cesse d'augmenter avec le projet d'extension de la Société de Raffinage de Zinder (SORAZ) au Niger et avec la mise en exploitation de la plus grande raffinerie au monde (650.000 barils/jour), la RAFFINERIE DANGOTE, au Nigeria. Or, le Niger dispose d'un grand potentiel en matériaux argileux dont l'utilisation se limite généralement dans la construction de maisons d'habitation et dans la poterie [33–36]. La synthèse de ces types de catalyseurs, ZSM-5, à base des minéraux argileux pourrait intéresser ces sociétés.

L'objectif principal de ce travail est de caractériser l'argile brute D₁ du Niger-Maradi et sa fraction fine D₂ afin de discuter de la possibilité de leur utilisation dans la synthèse des catalyseurs aluminosilicates ZSM-5.

Matériel et Méthodes :

L'argile brute notée D₁ qui fait l'objet de la présente étude a été prélevée au Niger dans la région de Maradi (figure-1) plus précisément dans la localité de Djirataoua (Coordonnées GPS : Profondeur 3m ; Latitude N 13°24'39,6'' ; Longitude E 7°08'41'6'').

L'argile brute D₁ récoltée est un mélange de minéraux argileux qu'il faut libérer à l'ultrason pendant 5 mn dans un bac et d'impuretés (matière organique, carbonates etc) qu'il faut éliminer. Pour ce faire, la méthode proposée par Médard Thiry et al [37] a été utilisée pour la purification de D₁. L'argile brute D₁ a d'abord subi des opérations de décarbonatation et de destruction de la matière organique respectivement avec de l'acide chlorhydrique HCl et de l'eau oxygénée H₂O à 10%. Le mélange eau-D₁ a été agité doucement pendant le traitement pour accélérer la libération des minéraux argileux. Si l'eau du bécher est assez trouble, recueillir cette eau sans résidu du fond. Par contre, si l'eau reste claire, il est nécessaire de reprendre le traitement à l'ultrason. Le rinçage se fait à l'aide de la centrifugeuse et a pour but d'éliminer les impuretés dissoutes dans l'eau afin de favoriser une meilleure défloculation des minéraux argileux. Pour éliminer ces impuretés, il faut faire passer le mélange eau-D₁ à la centrifugeuse en procédant comme suit : centrifuger à 3000 trs/min pendant 10 mn, puis, répéter l'opération jusqu'à l'obtention d'une solution trouble.

La séparation vise à extraire de la solution trouble uniquement les minéraux argileux. Elle a été réalisée au moyen de la centrifugation selon la procédure suivante :

- ajouter quelques gouttes d'ammoniac pour accélérer la défloculation ;
- amorcer la centrifugation à 1 mn 06 s et 1000 trs/mn ;
- arrêter la machine et retirer le surnageant.

Par la suite reprendre sur une lame de verre, une fine couche d'échantillon des minéraux argileux, la sécher à 60°C. Cet échantillon des minéraux argileux ainsi obtenu est noté D₂.

Les méthodes d'analyses suivantes ont été employées pour déterminer les caractéristiques de D₁ et D₂ : Diffraction des rayons-X (DRX), Fluorescence des rayons-X (FRX), Spectroscopie Infrarouge (FT-IR) et Brunauer-Emmet-Teller (BET).

En fin, un plan de criblage à sept (7) facteurs a été utilisé pour la synthèse des catalyseurs aluminosilicates ZSM-5.

Résultats :

Diffraction des rayons-X (DRX) :

Le résultat de l'analyse de la diffraction des rayons-X (DRX) de l'argile brute D₁ est illustré à la figure-1 suivante :

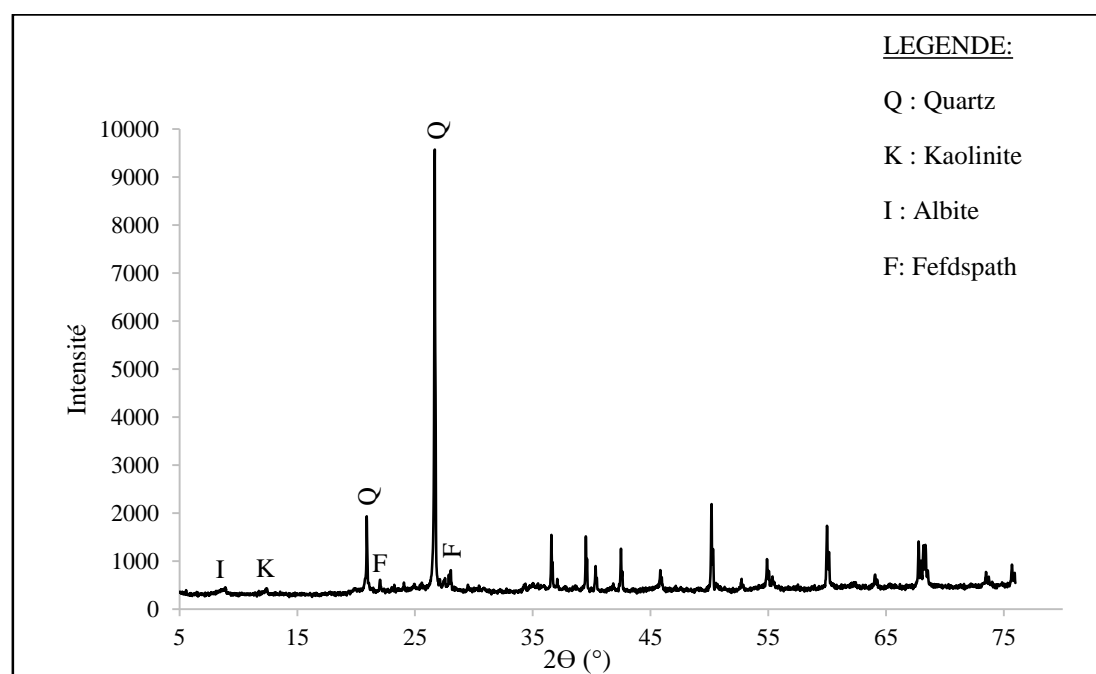


Figure-1 : Diffractogramme-RX de l'argile brute D₁.

Sur la Figure-1 ci-dessus, on observe des pics autour de : 9° (2θ) caractéristique de l'illite [(K, H₃O)(Al, Mg, Fe)₂ (Si, Al)₄ O₁₀((OH)₂, (H₂O))] [40,41], 12° (2θ) caractéristique de la Kaolinite [(Al₂Si₂O₉H₄)] [42], 21° (2θ) et 26° (2θ) caractéristique du quartz [Si₃O₆], enfin, 22° (2θ) et 28° (2θ) caractéristique du Feldspath [KAlSi₃O₈] [43].

L'échantillon D₁ contient ; outre les minéraux argileux comme l'illite, la kaolinite et le feldspath d'autres éléments considérés comme non argileux notamment ; du quartz libre. La présence du quartz libre dans l'argile est indésirable pour son utilisation dans la synthèse du catalyseur ZSM-5 selon les travaux de Xing.Y et al [25], de Pan. F et al [24], de Nanzhe et al [26] et ceux de Liu. H et al [44].

En vue d'éliminer le quartz libre présent dans cet échantillon, il a été procédé à l'extraction de la fraction argileuse D₂ dont le diffractogramme des rayons-X est présenté dans la figure-2.

Figure-3 : Diffractogramme-RX de la fraction argileuse D₂ naturelle, traitée à éthylène-glycol, puis chauffée à 550°C.

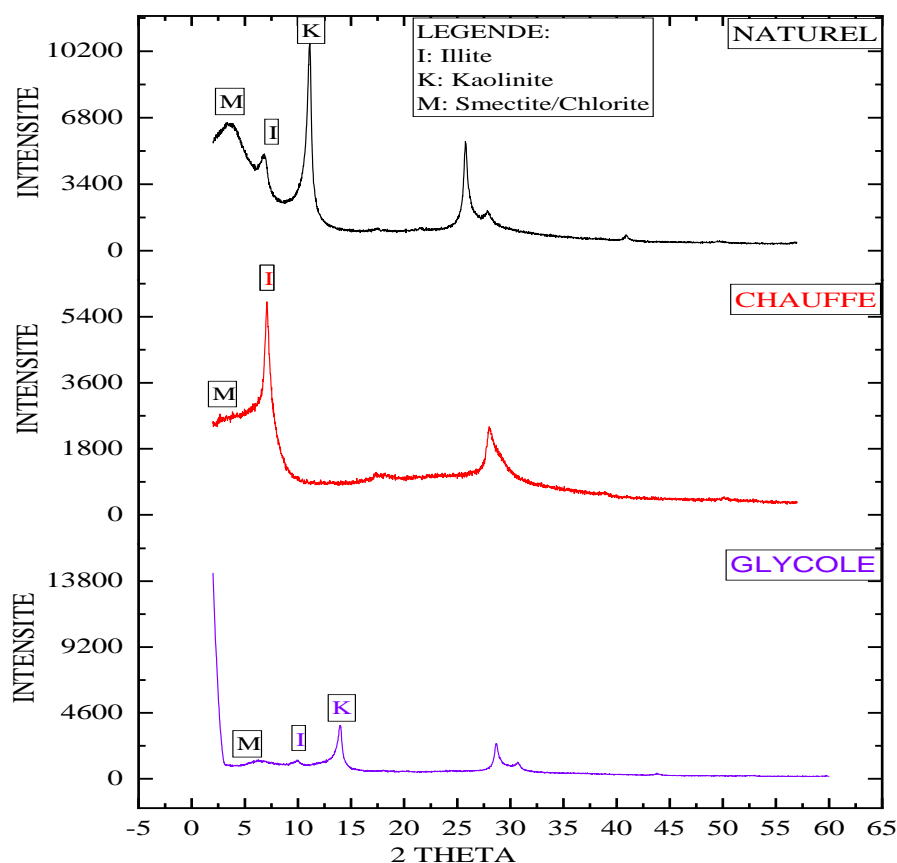


Figure-2 : Diffractogramme-RX de la fraction argileuse D₂ naturelle, traitée à éthylène-glycol, puis chauffée à 550°C.

La figure-2 ci-dessus donne les résultats de l'analyse DRX de la fraction argileuse D₂ naturelle, traitée à éthylène-glycol et chauffée à 550°C. L'analyse des spectres à l'aide du logiciel d'identification et de quantification des minéraux argileux, **FITYK**, a montré des raies caractéristiques de la kaolinite (K), de l'illite (I) et de la smectite (smectite\chlorite : M) [33].

Il est à remarquer que les éléments tels que le feldspath, le quartz ne sont plus présents dans la fraction argileuse. Cela indique que les opérations de purification employées ont été bien menées. La quantification des minéraux argileux présents dans la fraction argileuse montre une large prédominance de la kaolinite avec 81,8%. La teneur en illite a été estimée à 14% tandis que celle de smectite est de 4%.

Cette composition minéralogique indique que cette argile du Niger-Maradi est une argile mixte, c'est-à-dire qu'elle contient 96% d'argiles non gonflantes (kaolinite et illite) et 4% d'argiles gonflantes (smectite). Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par O.D.M Abdoulaye et al, 2019 lors de leurs travaux de la caractérisation minéralogique et morphologique d'une argile d'une Niger-Tahoua [45].

Abdoulaye et al 2019, ont, par la suite, en 2021, utilisé la fraction fine de ladite argile (Niger-Tahoua) caractérisée pour synthétiser un catalyseur, la faujasite [46]. Ces résultats sont également assimilables à ceux de M.A Maman et al, 2017 [47] et de M. Gourouza et al, 2013 [33]. Au regard de l'utilisation de l'argile faite par les auteurs précédemment cités, l'échantillon d'argile du Niger-Maradi D₂ peut également être utilisé pour la synthèse du catalyseur aluminosilicate ZSM-5.

Fluorescence des rayons-X (FRX) :

L'analyse chimique élémentaire par fluorescence des rayons-X (FRX) a été réalisée sur D₁ et D₂. Les résultats de cette analyse indiquent la prédominance de la silice et de l'alumine dans D₁ et D₂, selon le tableau I ci-dessous :

TABLEAU I : Composition chimique et Rapport SiO₂/Al₂O₃ de D₁ et D₂.

Oxydes (%)	Echantillons	
	D ₁	D ₂
SiO ₂	58,851	42,888
Al ₂ O ₃	14,515	20,096
Fe ₂ O ₃	8,294	12,354
MgO	3,27	2,366
P ₂ O ₅	0,8877	0,3305
SO ₃	0,0784	0,1178
TiO ₂	0,8425	0,8954
MnO	0,7536	0,2161
CaO	0,8793	1,4001
K ₂ O	2,1432	0,9424
Na ₂ O	1,8770	0,607
ZrO ₂	0,1661	0,0129
SrO	0,156	0,2769
Autres	7,2862	17,4969
SiO₂/Al₂O₃	4,054	2,134

Ces résultats montrent que, pour le cas de D₁, le pourcentage de la silice et de l'alumine est très élevé, soit un rapport SiO₂/Al₂O₃ égal à 4,054. Ce dernier est nettement supérieur au rapport classique SiO₂/Al₂O₃ de la kaolinite qui est inférieur à 2 [48]. Cette différence remarquable indique la présence probable du quartz libre dans D₁ en grande proportion [49] d'où la nécessité de procéder à l'extraction de la fraction argileuse D₂.

Dans la fraction argileuse D₂ il a été constaté une diminution de la teneur en SiO₂ et une augmentation de la teneur en Al₂O₃, soit un rapport SiO₂/Al₂O₃ égal à 2,134, qui est légèrement supérieur à celui de la kaolinite [48]. Cela pourrait être expliqué par la purification qu'a subit l'échantillon D₁. On constate également une sensible augmentation de la teneur d'autres oxydes comme celui de fer (Fe₂O₃), de calcium (CaO) et de titane (TiO₂).

En plus, cette analyse montre que l'échantillon D₂ ne contient quasiment pas (état de trace) des métaux comme le vanadium et le Nickel. Cependant, une concentration élevée de ces métaux dans les minéraux argileux naturels pourrait négativement affecter la performance d'un catalyseur, selon Emam [43]. Des métaux tels que le vanadium et le nickel causent également l'empoisonnement des catalyseurs et finissent par provoquer leur désactivation, selon Sadeghbeigi [50].

Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FT-IR) :

La Spectrométrie à Transformée de Fourier (IR) a été réalisée sur l'échantillon D₁ et D₂ afin de compléter la diffraction des rayons-X. Cette analyse a permis de mettre en exergue la nature des liaisons chimiques ainsi que celle des atomes engagés dans ces liaisons ; quasiment inobservables avec la diffraction des rayons-X. Les figure-3 et figure-4 suivantes donnent le spectre IR respectivement de D₁ et de D₂ :

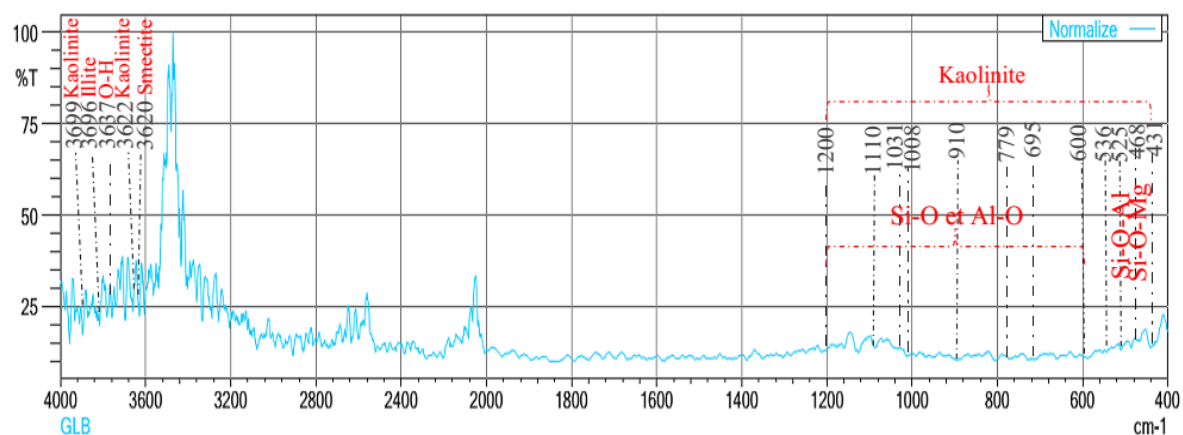


Figure-3 : Spectre-IR de l'échantillon D₁.

Les bandes observables entre 600 et 1200 cm^{-1} , sur la figure-3, nous renseignent sur la présence des aluminosilicates dans l'échantillon D₁, donc sur les liaisons interatomiques Si-O et Al-O [51]. Selon O. BOURAS, les bandes comprises entre 468 et 525 cm^{-1} sont celles des vibrations de la formation de Si-O-Mg et Si-O-Al [52]. Les bandes observables sur le spectre-IR à des valeurs 3699, 3622, 1110, 1031, 1008, 910 cm^{-1} , sont celles de la formation de la kaolinite [53,54]. Les bandes de vibration caractéristiques du quartz sont observées à 779 et 695 cm^{-1} [54]. En effet, on observe d'autres bandes de vibration de formation de Si-O autour de 1017 et près de 1019 cm^{-1} et une bande de vibration de formation des hydroxyles autour de 1637 cm^{-1} [55].

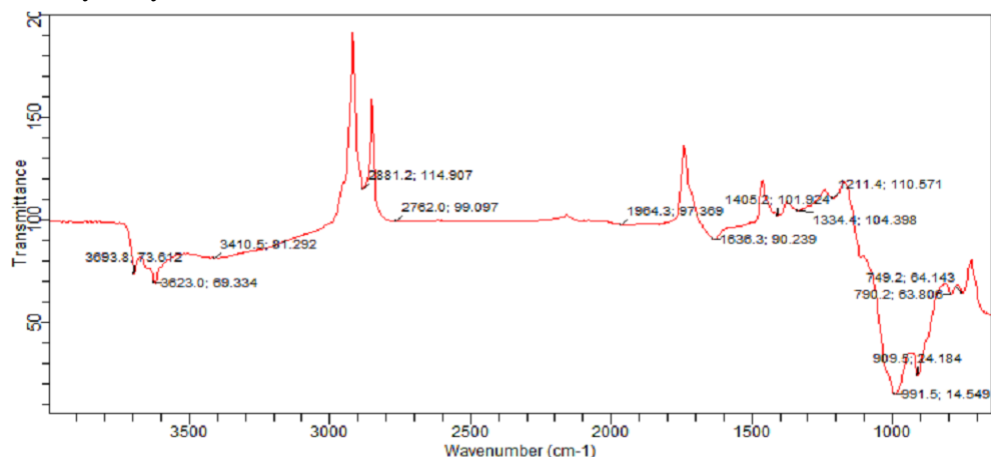


Figure-4 : Spectre-IR de l'échantillon D₂.

On constate sur le spectre IR de D₂ (figure-4) que, les bandes de vibration caractéristiques du quartz (779 et 695 cm^{-1}), ne sont plus observables. Cela s'explique par la purification de l'échantillon D₂ qui a permis de défaire des cristaux de quartz, de la matière organique et des carbonates. Les bandes observables autour 468 et 525 cm^{-1} caractéristiques des vibrations de formation de Si-O-Mg et Si-O-Al [52] font place à des bandes observables autour de 749,2 et 790,2 cm^{-1} [56]. Ces dernières sont attribuables aux vibrations l'élongation des liaisons Si-O-Al et aux hydroxyles perpendiculairement à la surface (O-H translationnel) [57]. Les bandes caractéristiques de la kaolinite sont observables entre 909,5 et 1211,4 cm^{-1} sur le spectre IR de D₂. D'autres bandes d'adsorption caractéristiques des phyllosilicates (illite, smectite et chlorite) sont observées autour de 3623 et 3693,8 cm^{-1} .

Ces résultats de l'analyse IR sont parfaitement en accord avec les résultats de la diffraction des rayons-X en ce sens qu'ils révèlent que l'échantillon D₁ contient, outre les cristaux de quartz, des minéraux argileux phyllosilicates tels que la kaolinite, l'illite, la smectite et le chlorite. Quant à l'échantillon D₂, il ne contient que des minéraux argileux (kaolinite, l'illite, smectite et chlorite).

Or, plusieurs auteurs ont utilisé des minéraux argileux phyllosilicates pour synthétiser de la zéolite ZSM-5. Ainsi, Yue.Y et al, 2014 [23] ont utilisé, en plus de la diatomite, de la rectorite, qui est un minéral

argileux à deux phyllosilicates (smectite et mica) pour synthétiser de la ZSM-5. Xing. Y et al, 2017 [25], ont utilisé de l'attapulgite qui est un minéral phyllosilicate pour synthétiser le catalyseur aluminosilicate ZSM-5. Liu. Y et al, 2019 [26], ont également utilisé de l'illite qui est un minéral argileux phyllosilicate non gonflant pour synthétiser de la ZSM-5. Dans le même ordre d'idée Wu. M et al 2020 [28] ont, à leur tour aussi, utilisé de la palygorskite, qui est un minéral argileux phyllosilicate, pour synthétiser le catalyseur ZSM-5. Yue. Y et al, 2020 [27] ont utilisé de l'allevardite qui est un minéral argileux régulier à deux phyllosilicates (smectite et mica) pour synthétiser aussi le catalyseur aluminosilicate zéolitique ZSM-5.

Fort de ces arguments, l'échantillon D₂ contenant des minéraux argileux (kaolinite, illite, smectite et chlorite) pourrait être utilisé pour la synthèse des catalyseurs aluminosilicates zéolitiques ZSM-5.

Microscopie Electronique à Balayage (MEB) :

La microscopie électronique à balayage permet, non seulement, d'observer la texture des échantillons argileux, mais aussi, de caractériser les assemblages minéralogiques. Les imageries obtenues de D₁ (a) et D₂ (b) par MEB avec des grossissements de 100µm sont présentées à la figure-5 suivante :

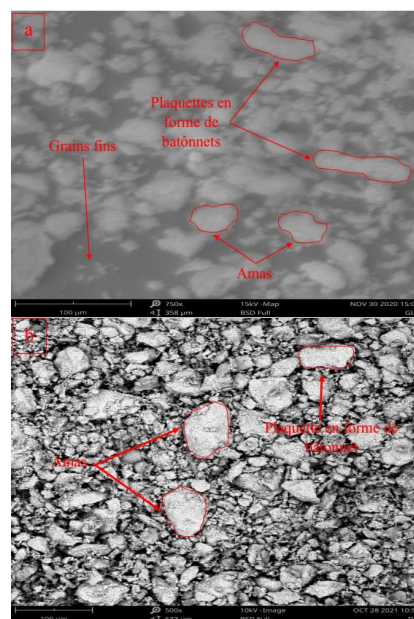


Figure-5 : Images de la Microscopie Electronique à Balayage (MEB) de D₁ (a) et D₂ (b) à des grossissements de 100µm.

Les images de la figure-5 ci-dessus montrent des particules argileuses sous forme de plaquettes en forme de bâtonnets aux contours irréguliers et d'amas sur l'image de D₁ (a) et sur celle de D₂ (b). Ces morphologies, comme l'a observé Konan [39], sont caractéristiques de la kaolinite, de l'illite et d'autres minéraux argileux mal cristallisés comme la smectite et chlorite [49]. Cela démontre que les échantillons D₁ et D₂ contiennent de la kaolinite, de l'illite, de smectite et de chlorite. On constate que l'échantillon D₂ présente une concentration plus élevée, par rapport à l'échantillon D₁, des particules argileuses sous forme de plaquettes en forme de bâtonnets et d'amas. D₂ contient donc plus de minéraux argileux que D₁. Les agrégats bien observables sur l'image de D₁ (a) reflètent la présence des carbonates et les grains de petite taille observables sur D₁ aussi reflètent la présence du quartz [66,67] dans l'échantillon D₁. Ces résultats sont en accord avec les résultats des

analyses de DRX et de XRF.

Synthèse des catalyseurs ZSM-5 :

- **Domaine expérimental :**
- **Valeurs réelles :**

ExpN°	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7
1	+ (2g)	- (D ₁)	+ (S _{M1})	+ (10h)	- (12h)	- (550°C)	+ (4h)
2	+(2g)	+ (D ₂)	- (S _{M2})	+ (10h)	+ (24h)	- (550°C)	- (3h)
3	- (1g)	+ (D ₂)	+ (S _{M1})	- (6h)	+ (24h)	+ (650°C)	- (3h)
4	- (1g)	- (D ₁)	+ (S _{M1})	+ (10h)	- (12h)	+ (650°C)	+ (4h)
5	+ (2g)	- (D ₁)	- (S _{M2})	+ (10h)	+ (24h)	- (550°C)	+ (4h)
6	Facteurs	+(D ₂)	-(S _{M2})	-(6h)	Niveau le + (24h)	+(650°C)	Niveau le haut (+1)
7	Isopropoxyde d'aluminium (IP)	-(1g)	+(S _{M1})	-(6h)	-(12h)	+(650°C)	+(4h)
8	-(1g)	-(D ₁)	-(S _{M2})	-(6h)	1g (12h)	-(550°C)	2g (3h)
Argile Djirataoua (D)			X2	Argile brute (D ₁)		Argile traitée (D ₂)	
Sable Goulbi-Maradi (S _M)			X3	18 µm (S _{M1})		24 µm (S _{M2})	
Temps d'agitation (TA)			X4	6h		10h	
Temps de séchage (TS)			X5	12h		24h	
Température de calcination (T°C)			X6	550°C		650°C	
Temps de calcination (TC)			X7	3h		4h	

- **Matrice d'Adamard :**

ExpN°	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7
1	+	-	+	+	-	-	+
2	+	+	-	+	+	-	-
3	-	+	+	-	+	+	-
4	-	-	+	+	-	+	+
5	+	-	-	+	+	-	+
6	+	+	-	-	+	+	-
7	-	+	+	-	-	+	+
8	-	-	-	-	-	-	-

- **Expériences (ExpN°) :**

ZSM-5	IP (g)	D (g)	S _M (µm)	TA (h)	TS (h)	TeC (°)	TC (h)
1- ZSM-5	2	D ₁	S _{M2}	10	12	550	4
2- ZSM-5	2	D ₂	S _{M1}	10	24	550	3
3- ZSM-5	1	D ₂	S _{M2}	6	24	650	3
4- ZSM-5	1	D ₁	S _{M2}	10	12	650	4
5- ZSM-5	2	D ₁	S _{M1}	10	24	550	4
6- ZSM-5	2	D ₂	S _{M1}	6	24	650	3
7- ZSM-5	1	D ₂	S _{M2}	6	12	650	4
8- ZSM-5	1	D ₁	S _{M1}	6	12	550	3

Synthèse hydrothermale des catalyseurs ZSM-5 :

ZSM-5	NaOH	Na ₂ CO ₃	NaHCO ₃	Totaux
	Fs (éq/g) = (nréagit*100/m)	Fs (éq/g) = (nréagit*100/m)	Fs (éq/g) = (nréagit*100/m)	Fs (éq/g)
1	30	20	15	65
2	35	15	10	60
3	5	5	5	15
4	15	20	15	50
5	10	10	15	35

6	25	20	5	50
7	30	5	20	55
8	20	0	0	20

Conclusion et perspectives :

- La DRX, la FRX, l' FT-IR et la MEB; sont utilisées dans les présents travaux;
- Nous avons ainsi établi que l'échantillon D₁ est un matériaux aluminosilicate qui contient essentiellement des minéraux argileux, en forme de batonnets, d'amas et d'agrégats fins, tels que la kaolinite, l'illite, la smectite, chlorite et des impuretés (carbonates, quartz etc) ;
- Aussi, D₂ est matériaux aluminosilicate mais qui ne présente quasiment pas des impuretés et qui contient les mêmes minéraux argileux en forme de batonnets, d'amas et d'agrégats fins, dans les proportions de 81,8% de la kaolinite, 14,2 % d'illite et 4% de smectite soit 96% d'argiles non gonflantes (kaolinite et illite) et 4% d'argiles gonflantes (smectite) ;
- Nous pouvons affirmer que les échantillons d'argile brute D₁ et la fraction fine D₂ possèdent les caractéristiques physico-chimique, minéralogique et morphologique requises pour être utilisés dans la synthèse des catalyseurs zéolitiques aluminosilicates ZSM-5 ;
- Perspectives : les trois meilleurs catalyseurs 1-ZSM-5, 2-ZSM-5 et 7-ZSM-5 feront l'objet d'une caractérisation et d'une réaction du craquage catalytique (500°C et 3 bars).

Références :

- [1] EP2333031B1 - Procédé de production de carburants kérosène et diesel de haute qualité et de coproduction d'hydrogène à partir de coupes saturées légères - Google Patents n.d. <https://patents.google.com/patent/EP2333031B1/zh-cn> (accessed October 18, 2019).
- [2] Degnan TF, Chitnis GK, Schipper PH. History of ZSM-5 fluid catalytic cracking additive development at Mobil. *Microporous Mesoporous Mater* 2000;35–36:245–52. [https://doi.org/10.1016/S1387-1811\(99\)00225-5](https://doi.org/10.1016/S1387-1811(99)00225-5).
- [3] Luo W, Yang X, Wang Z, Huang W, Chen J, Jiang W, et al. Synthesis of ZSM-5 aggregates made of zeolite nanocrystals through a simple solvent-free method. *Microporous Mesoporous Mater* 2017;243:112–8. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2017.01.040>.
- [4] de Klerk A. Oligomerization of 1-Hexene and 1-Octene over Solid Acid Catalysts. *Ind Eng Chem Res* 2005;44:3887–93. <https://doi.org/10.1021/ie0487843>.
- [5] Grigor'eva NG, Serebrennikov DV, Bubennov SV, Kutepov BI. Oligomerization of 1-Pentene on Zeolite Catalysts. *Catal Ind* 2020;12:47–55. <https://doi.org/10.1134/S2070050420010079>.
- [6] Halmenschlager CM, Brar M, Apan IT, de Klerk A. Oligomerization of Fischer–Tropsch Tail Gas over H-ZSM-5. *Ind Eng Chem Res* 2016;55:13020–31. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.6b03861>.
- [7] de Klerk A. Oligomerization of Fischer–Tropsch Olefins to Distillates over Amorphous Silica–Alumina. *Energy Fuels* 2006;20:1799–805. <https://doi.org/10.1021/ef060169j>.
- [8] Bubennov SV, Zainullin II, Bayteriakov VS, Bashirova GM. OLIGOMERIZATION OF ISOPENTENE MIXTURES: ANALYSIS OF THE CURRENT STATE AND PROSPECTS FOR THE DEVELOPMENT OF HETEROGENEOUS OLIGOMERIZATION CATALYSTS. *Oil Gas Bus* 2020:170. <https://doi.org/10.17122/ogbus-2020-1-170-194>.
- [9] Moon S, Chae H-J, Park MB. Oligomerization of light olefins over ZSM-5 and beta zeolite catalysts by modifying textural properties. *Appl Catal Gen* 2018;553:15–23. <https://doi.org/10.1016/j.apcata.2018.01.015>.
- [10] Monama W, Mohiuddin E, Thangaraj B, Mdleleni MM, Key D. Oligomerization of lower olefins to fuel range hydrocarbons over texturally enhanced ZSM-5 catalyst. *Catal Today* 2019:S0920586119300860. <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2019.02.061>.
- [11] Bellussi G, Mizia F, Calemma V, Pollesel P, Millini R. Oligomerization of olefins from Light Cracking Naphtha over zeolite-based catalyst for the production of high quality diesel fuel. *Microporous Mesoporous Mater* 2012;164:127–34. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2012.07.020>.
- [12] Suganuma S, Katada N. Innovation of catalytic technology for upgrading of crude oil in petroleum refinery. *Fuel Process Technol* 2020;208:106518. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2020.106518>.

- [13] Emori EY, Hirashima FH, Zandonai CH, Ortiz-Bravo CA, Fernandes-Machado NRC, Olsen-Scaliante MHN. Catalytic cracking of soybean oil using ZSM5 zeolite. *Catal Today* 2017;279:168–76. <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2016.05.052>.
- [14] Huang H, Zhu H, Zhang S, Zhang Q, Li C. Effect of silicon to aluminum ratio on the selectivity to propene in methanol conversion over H-ZSM-5 zeolites. *J Fuel Chem Technol* 2019;47:74–82. [https://doi.org/10.1016/S1872-5813\(19\)30005-2](https://doi.org/10.1016/S1872-5813(19)30005-2).
- [15] Ishihara A. Preparation and reactivity of hierarchical catalysts in catalytic cracking. *Fuel Process Technol* 2019;194:106116. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2019.05.039>.
- [16] Pan M, Zheng J, Liu Y, Ning W, Tian H, Li R. Construction and practical application of a novel zeolite catalyst for hierarchically cracking of heavy oil. *J Catal* 2019;369:72–85. <https://doi.org/10.1016/j.jcat.2018.10.032>.

Etude quantitative des minéraux d'une céramique poreuse formulée à partir de matières premières minérales du Burkina Faso.

Joël Samba^a, Youssouf Sawadogo^a, Moussa Ouedraogo^{a,b}, Moustapha Sawadogo^a, Brahim Sorgho^a, Lamine Zerbo^a, Mohamed Seynou^a.

^a*Laboratoire de Chimie Moléculaire et de Matériaux, équipe de physico-chimie et de Technologie des matériaux UFR/SEA, Université Joseph Ki-Zerbo 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso.*

^b*Unité de Formation et de Recherche en Sciences et Techniques (UFR/ST), Université Nazi BONI, B.P. 1091 Bobo 01, Burkina Faso.*

Résumé : L'argile est une ressource minérale disponible dans la plupart des pays de la sous-région Ouest-africaine et susceptible d'être exploitée pour des utilisations variées. Elle rentre dans la fabrication de différents produits tels que carreaux, briques en terre cuite, filtres céramiques. Les propriétés technologiques d'un produit fini sont fonction de sa composition chimique, minéralogique et microstructurale. L'objectif de cette étude est de quantifier les différentes phases contenues dans un filtre céramique formulé à partir de matières premières argileuses du Burkina Faso. Un mélange de poudres d'argile et de coque d'arachide à des teneurs de 0 à 25%, broyé à 210 µm a été compressé avec 23 à 35% d'eau. Les éprouvettes obtenues ont été cuites à 1260 °C avec une vitesse de montée de 10 °C/min. Des caractéristiques physico-chimiques, mécaniques et minéralogiques des éprouvettes ont été évaluées. L'incorporation de la coque d'arachide de 15 et 25% a permis d'avoir des céramiques poreuses et donc absorbants avec une résistance thermique moyenne. L'éprouvette formulée avec 15% de coque d'arachide contient du Quartz : 53%, mullite : 26% et d'une phase amorphe : 17% (valeur requise : 14%) et qui au regard de ses propriétés physico-chimiques et mécaniques convient pour la fabrication des filtres céramiques.

Mots clés : Argile, Coque d'arachide, Minéralogie, Filtre céramique.

Abstract: Clay is a mineral resource available in most countries of the West African sub-region and can be exploited for various uses. It is used in the manufacture of various products such as adobes, tiles, clay bricks, ceramic filters. The technological properties of a finished product depend on its chemical, mineralogical and microstructural composition. The objective of this study is to quantify the different phases contained in a ceramic filter formulated from clay raw materials from Burkina Faso. A mixture of clay (SAB) and peanut shell (CA) powders with mass contents of 0 to 25%, ground to 210 µm was compressed with 23 to 35% water. The resulting specimens were fired at 1260 °C for 2 hours with a rate of rise of 10 °C/min. Physicochemical, mechanical and mineralogical characteristics of the specimens were evaluated. The incorporation of 15 and 25% peanut shells resulted in very porous and therefore absorbent ceramics with average thermal resistance. The specimen formulated with 15% CA contains Quartz : 53%, mullite: 26% and an amorphous phase: 17% (required value: 14%) and which with regard to its physicochemical and mechanical properties is suitable for the manufacture of ceramic filters.

Key words : Clay, Peanut shell, Mineralogy, Ceramic filter.

Introduction

Les céramiques poreuses sont des céramiques silicatées, constituées en majorité de matières premières minérales. Elles sont utilisées pour filtrer et traiter les liquides et les gaz. Le plus souvent formées d'oxydes ou non-oxydes, elles sont ainsi utilisées dans de nombreuses applications comme la décontamination bactérienne de l'eau ou la dépollution des gaz d'échappement. Outre le fait qu'ils résistent mieux et plus longtemps que les filtres polymères à des conditions d'utilisation sévères, les filtres en céramique permettent d'atteindre des niveaux de filtration très fins et peuvent aussi servir de support à des réactions chimiques permettant d'éliminer des particules ou molécules indésirables [1]. Ce vaste domaine d'emploi des céramiques poreuses est lié à leur stabilité thermique, chimique et physique [2]. Cette stabilité est dépendante du processus d'élaboration ; des matières premières argileuses entrant dans leur composition [3] et les différentes phases formées au sein de ces matériaux.

D'où une connaissance plus approfondie des natures des phases minéralogiques ainsi que de leur proportion est nécessaire. En effet, les pays de la sous-région ouest africaine regorgent d'énormes ressources en matière première argileuse alors que la plupart des céramiques poreuses utilisées sont exportées. A cet effet l'objectif principal de cette étude est de quantifier les différentes phases (amorphes et cristallisées) contenues dans une céramique formulée à partir de matières premières du Burkina Faso. Spécifiquement, il s'agira de formuler des éprouvettes à partir de coques d'arachide et d'argile locale de caractéristiques connues. Les éprouvettes formulées et frittées seront caractérisées à partir de techniques physico-chimiques et minéralogiques.

2. Matières premières et méthodes expérimentales

2.1. Matières premières

Le matériau argileux utilisé est une argile locale provenant de la commune de Sabcé. Sabcé est un département situé dans la province du Bam dans la région du centre-nord au Burkina Faso aux coordonnées 13° 11' 52'' Nord et 1° 31' 18'' Ouest [2]. Nous référencerons le matériau argileux SAB dans notre étude. Les coques d'arachide utilisées en tant qu'agent porogène référencées CA, proviennent des récoltes d'un champ à Banfora au Burkina Faso de coordonnées : 10° 36' Nord et 4° 45' Ouest [4]. SAB et CA ont déjà fait l'objet de caractérisation dans des travaux antérieurs [2 ;4]. Rappelons ici quelques résultats de leur caractérisation, notamment les caractérisations chimique et minéralogique.

La composition chimique élémentaire de SAB est consignée dans le **Tableau 1**.

L'échantillon SAB est majoritairement riche en SiO₂ et Al₂O₃ et cela traduit son appartenance à la famille des aluminosilicates et contiendrait donc en majorité des phases argileuses. La teneur non négligeable de K₂O indique la présence probable de phase mica dans l'échantillon [2]. SAB est le mélange type de pâte pour céramique. Elle contient des plastifiants, dégraissants, fondants et colorants. La quantité relativement importante de colorant (Fe₂O₃ + TiO₂ = 1,8%) et de fondant (K₂O + MgO + Na₂O = 2,06%) permettent d'avoir des céramiques bien consolidées à des températures relativement basses [5]. Les résultats de la composition chimique de CA indiquent que la poudre de CA est composée principalement de matière organique. Les quelques oxydes présents en quantité relativement appréciable sont l'oxyde de fer (6,05%) et la silice (5,92%). À ces deux composants s'ajoutent l'alumine, la chaux et l'oxyde de potassium en moindre proportion.

Le bilan minéralogique indique que SAB est composé majoritairement de 45% de quartz (SiO₂), 40% de kaolinite (Al₂Si₂O₅(OH)₄), et 13% d'illite ((K,H₃O)Al₂Si₃AlO₁₀(OH)₂) [2].

La kaolinite et le quartz sont des minéraux couramment employés pour la production de matériau silico-alumineux. La kaolinite limite le fluage étendu à température élevée et le quartz permet aux pièces crues d'avoir de bonnes tenues mécaniques tout en améliorant le séchage [6]. Il permet également de limiter le retrait lors du frittage et participe à une certaine température à la formation de la mullite [2].

Tableau 1 : composition chimique de SAB en pourcentage massique.

Oxydes (%)	SiO ₂	Al ₂ O ₃	CaO	K ₂ O	MnO	MgO	Na ₂ O	TiO ₂	Fe ₂ O ₃	PF	Total
SAB	69,09	20,55	-	1,45	-	0,12	0,49	0,95	0,85	6,4	99,9

PF : Perte au feu 1000°C

2.2. Elaboration des éprouvettes

L'argile a été concassée puis broyée à l'aide d'un tourne jarre jusqu'à obtention d'une granulométrie de 100 µm. Quant aux coques d'arachide, elles ont été broyées à des grains inférieurs à 1 mm. Les proportions des matières premières utilisées pour les différentes formulations sont consignées dans le **tableau 2**. Les différentes matières premières (SAB et CA) sont mélangées à des proportions bien définies. Le mélange obtenu est humidifié de 25 à 35 % en masse en fonction de la teneur en coque d'arachide afin d'obtenir un mélange homogène plus ou moins granulé. La pâte granulée obtenue est ensuite conservée dans un sac plastique pendant 24 heures pour le murissement [7]. Cette pâte murie a été pressée dans un moule de forme cylindrique.

Les éprouvettes ont été séchées puis frittées à une température 1260°C avec une vitesse de chauffage 10 °C/min et un palier de cuisson de deux (2) heures.

Tableau 2 : composition du mélange SAB-CA

Nuances	SAB (%)	CA (%)	Eau (%)
---------	---------	--------	---------

E_0	100	0	32
E_{15}	85	15	32
E_{25}	75	25	32

2.3. Techniques de caractérisation physico-chimique

L'absorption d'eau (E) est obtenue par la méthode d'imprégnation dans l'eau bouillante selon la norme ISO 10545 [8]. Une masse M_1 de chaque éprouvette frittée est immergée dans de l'eau bouillante pendant 2 heures. Après 4 heures de refroidissement dans l'eau, on mesure la nouvelle masse M_2 du matériau humide. La différence de masse donne la masse d'eau absorbée par le matériau pendant ce temps. L'absorption d'eau est calculée par la relation 1 [9] :

$$E(\%) = \frac{M_2 - M_1}{M_1} \times 100 \quad \text{Relation 1}$$

$E(\%)$ - absorption d'eau, M_1 - masse de l'éprouvette cuite, M_2 - masse de l'éprouvette humide.

Selon la norme ISO 10545-5 [10], la densité des matériaux consolidés peut être déterminée par pesée hydrostatique [11]. Le matériau de masse initiale connue est pesé totalement immerger dans le liquide. Elle est déterminée en s'appuyant sur la relation 2 [11].

$$d = \frac{m_s}{m_{s+p} - m_{h(s+p)} - \left(\frac{m_{s+p} - m_s}{\rho_p} \right)} \quad \text{Relation 2}$$

Où :

$m_{h(s+p)}$ est la masse de l'échantillon enrobé de paraffine dans l'eau,

m_{s+p} est la masse de l'échantillon enrobé de paraffine dans l'air,

m_p la masse de paraffine, ρ_p la masse volumique de la paraffine (880 kg. m^{-3}),

m_s la masse de l'échantillon.

La résistance aux chocs thermiques a été réalisée selon la norme DIN 51068 [12]. L'échantillon est chauffé à 950°C pendant 15 minutes puis trempé brusquement dans l'eau à la température ambiante pendant 3 minutes. Après séchage à 110°C pendant 2 heures, l'opération (chauffage/trempe) est répétée jusqu'à apparition de fissures ou destruction de la brique. L'analyse chimique élémentaire des poudres des éprouvettes a été réalisée par fluorescence des rayons X.

2.4. Techniques d'identification et de quantification des phases dans les éprouvettes

La caractérisation minéralogique a été déterminée par la diffraction des rayons X. La quantification des phases cristallines s'est réalisée en rapprochant les résultats de l'analyse par diffraction des rayons X de ceux de l'analyse chimique élémentaire. Le calcul des pourcentages des phases cristallines détectées dans chaque échantillon se fait à l'aide de la relation 3 [2]:

$$T(a) = \sum M_i.P_i(a) \quad \text{Relation 3}$$

Dans cette relation, on a :

- $T(a)$ = teneur (oxyde %) en élément chimique « a » ;

- M_i = teneur (%) en minéral « i » dans la matière étudiée et contenant l'élément « i » ;

- $P_i(a)$ = proportion de l'élément « a » dans le minéral « i » (cette proportion est déduite de la formule idéale attribuée au minéral « i »).

La quantification de la phase vitreuse dans une céramique est possible grâce à la technique de la dissolution sélective acido-basique. Le principe consiste à suivre la cinétique de dissolution dans une solution acide et une solution basique de façon alternée. En effet, la vitesse de dissolution de la phase amorphe est bien plus rapide que celle des phases cristallines.

Les céramiques sont broyées à une taille inférieure à $100 \mu\text{m}$. Une quantité de 10 g de chaque poudre est mise dans un tube puis 75 mL d'acide chlorhydrique de concentration 4 N sont ajoutés. Après 30 minutes, l'acide est remplacé par 75 mL de soude à 0,5 N. Après 30 minutes, on filtre les résidus de l'attaque. La différence entre la masse initiale et la masse de la poudre donne la perte de masse ayant lieu lors du temps de l'attaque considérée. L'essai est répété de la même manière pour différents temps. L'acide a pour rôle de dissoudre l'oxyde de fer et l'alumine amorphe, la base dissout facilement la silice amorphe mais aussi l'alumine [13].

Pour une céramique (constituée d'un mélange de phases cristallines et amorphes) attaquée pendant différentes durées par l'acide chlorhydrique et par l'hydroxyde de sodium.

3. Résultats

3.1. Densité et porosité

L'évolution de la densité des éprouvettes en fonction des teneurs en CA est présentée par la **figure 1**. Nous constatons que la densité des éprouvettes diminue de 1,5 à 0,95 lorsque le pourcentage de CA augmente tandis que la porosité croît de 12,5% à 37% lorsque le pourcentage en CA augmente.

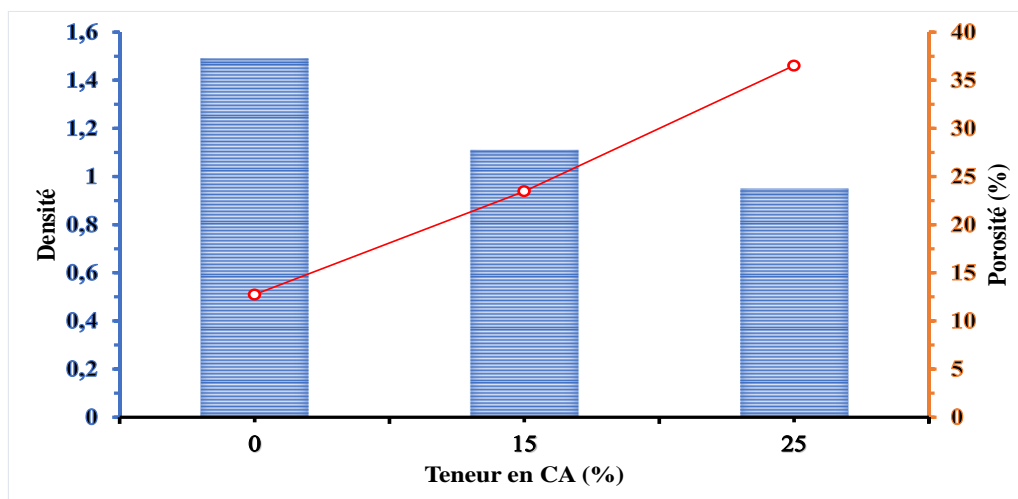


Figure 1 : Evolution de la densité et de la porosité des éprouvettes en fonction du pourcentage de CA.

3.2. Résistance aux chocs thermiques des éprouvettes

Le nombre de cycles de chauffage-trempe avant destruction des éprouvettes est consigné dans le **tableau 3**. Si la destruction survient au bout de 1 à 3 trempes, la résistance aux chocs thermiques du matériau est considérée mauvaise [14]. Elle est moyenne si la destruction survient au bout de 4 à 8 trempes et bonne si la destruction a lieu au bout de 9 à 20 trempes. Au-delà de 20 trempes, la résistance aux chocs thermiques du matériau est considérée excellente [15]. La destruction de nos éprouvettes (**figure 2**) a lieu entre 3 et 7 cycles. Nous pouvons considérer que nos matériaux formulés ont une résistance moyenne aux chocs thermiques à l'exception de l'éprouvette E₂₅ qui est détruit après seulement 3 cycles.

Tableau 3 : Essai aux chocs thermiques des différentes

Nuances	Nombre de cycles avant destruction
E ₀	7
E ₁₅	4
E ₂₅	3



Figure 2 : images photos des éprouvettes : a) avant le choc ; b) après le choc.

3.3. Identification et quantification des différentes phases minéralogiques

La composition chimique des éprouvettes après attaque chimique est consignée dans le **tableau 4**. Les diffractogrammes des éprouvettes élaborées (**figure 3**) indiquent que les éprouvettes sont composées essentiellement de la mullite et du quartz résiduel.

Les résultats de l'analyse chimique et ceux de la diffraction des rayons X permettent d'évaluer les quantités relatives des phases minérales contenues dans les échantillons après attaques chimiques à l'aide de **la relation 3** et les résultats sont consignés dans le **tableau 5**. Quant à la quantification des phases avant l'attaque, elle a été établie à partir de **la relation 4** et les résultats sont consignés dans le **tableau 6**.

$$M(\%) = \frac{m_f}{m_i} \times \%Pi \quad \text{relation 4}$$

Avec M (%) la teneur de la phase avant attaque ; Pi, la teneur de la phase après attaque ; m_f la masse de l'échantillon après attaque ; m_i la masse de l'échantillon avant attaque.

Tableau 4 : composition chimique des poudres des éprouvettes formulées

Oxydes (%)	SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	CaO	MgO	K ₂ O	Na ₂ O	TiO ₂	ZrO ₂	P ₂ O ₅	Total
E ₀	73,23	23,31	0,36	0,07	0,15	0,52	0,87	1,01	0,03	0,02	99,57
E ₁₅	73,14	22,90	0,35	0,11	0,14	0,62	0,97	1,06	0,04	0,03	99,36
E ₂₅	73,32	22,84	0,32	0,14	0,17	0,70	0,84	1,04	0,04	0,04	99,45

Tableau 5 : composition semi-quantitative des échantillons après attaque

	Nuances	Quartz	Mullite	Total
% en masse	E ₀	65	33	98
	E ₁₅	65	32	97
	E ₂₅	65	32	97

Tableau 6 : composition semi-quantitative des échantillons avant attaque

	Nuances	m _i (g)	m _f (g)	Quartz (%)	Mullite (%)
% en masse	E ₀	6,00	4,33	47	24
	E ₁₅	6,00	4,89	53	26
	E ₂₅	6,00	4,98	54	26

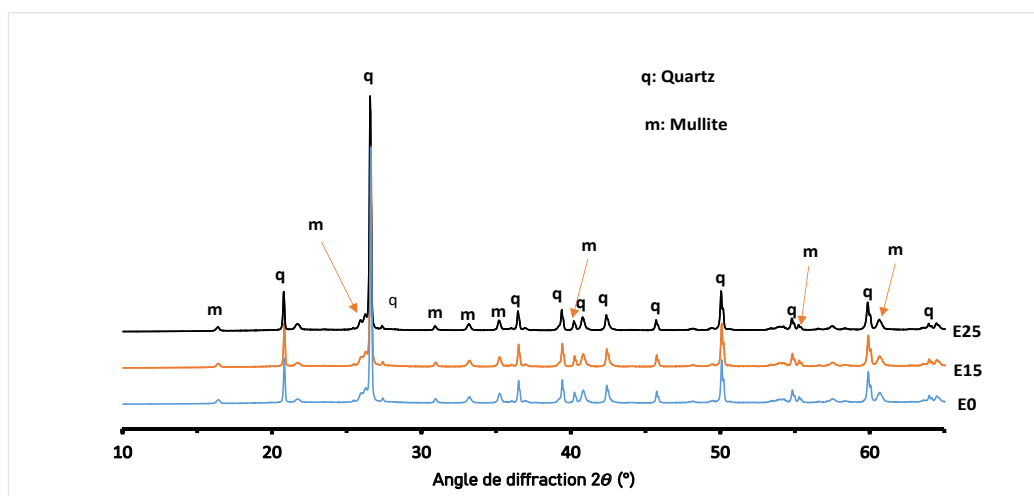


Figure 3: diffractogrammes des éprouvettes avant attaques chimiques.

La quantification de la phase amorphe des éprouvettes attaquées par l'acide chlorhydrique et par l'hydroxyde de sodium nous donne des courbes de dissolution à deux pentes (**figure 4**). La projection

sur l'axe des ordonnées nous renseigne sur les quantités des phases amorphes présentes dans nos éprouvettes. Ainsi, les résultats sont consignés dans le **tableau 7**.

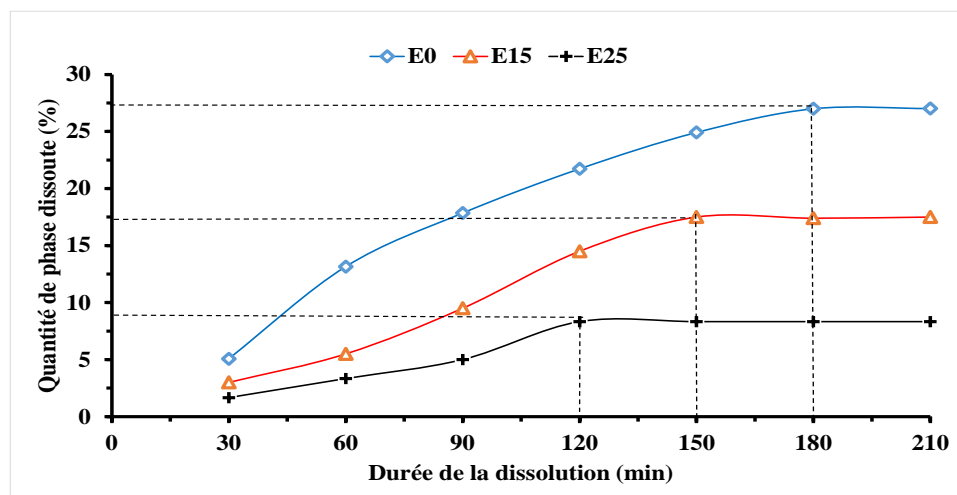


Figure 4 : évolution de la dissolution de la phase amorphe en fonction du temps

Tableau 7 : la teneur en phase amorphe des éprouvettes dissoutes en solution acide et basique.

Nuances	E ₀	E ₁₅	E ₂₅
Temps (min)	120	150	180
Teneur en phase amorphe (%)	27	17	9

4. Discussion

Toutes les éprouvettes cuites à 1260 °C sont composées de phases amorphe et cristallines en quantité variable. Le quartz et la mullite sont les principales phases cristallines identifiées dans tous les échantillons. La mullite est une phase cristalline de grande importance technologique due à ses excellentes propriétés technologiques, comme par exemple : sa basse expansion et conductivité thermique ($\sim 4,5 \cdot 10^{-6} \text{ }^\circ\text{C}^{-1}$ et $6 \text{ kcal}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{ }^\circ\text{C}^{-1}$ at 20 °C, respectivement), et sa résistance à la rupture et sa dureté appropriées ($\sim 200 \text{ MPa}$ y $\sim 2,5 \text{ MPa m}^{1/2}$, respectivement). En outre, elle confère une résistance au fluage élevée, une stabilité thermique et à la corrosion [16].

Pendant la cuisson, l'argile fond à partir de 950°C et bouche les pores consolidant ainsi le matériau en augmentant ses propriétés mécaniques et chimiques [17]. Yilmaz et Z. Engin Erkmén ont montré que pendant le traitement thermique, le composant principal de l'argile qui est la kaolinite est transformé en metakaolinite à 550 - 600 °C, avec une structure amorphe métastable déshydratée. À 950 - 1000 °C, elle est très progressivement transformée en phase spinelle d'alumine et en silice amorphe [17]. Pour une température de 1260 °C, les échantillons obtenus à partir de l'argile de Sabcé sans matières organiques (E₀) présentent une quantité en phase amorphe élevée (27%) avec une quantité en mullite appréciable (24%). Ces valeurs caractérisent la haute résistance aux chocs thermiques de ces éprouvettes. Comparés aux résultats des céramiques poreuses obtenues par I. Yakub et al. [14], les éprouvettes à 0% et 15% de CA présentent des densités (1,5 et 0,95) légèrement en-dessous des valeurs de I. Yakub et al (1,50 - 1,29). Quant à la porosité, les éprouvettes à 15% et 25% de CA, est relativement proche de celle de I. Yakub et al (36,38 - 46,95). La porosité élevée de E₁₅ et E₂₅ est l'œuvre de la matière organique qui est calcinée à partir de 500 °C créant ainsi des pores au sein du matériau. Dans la littérature, la teneur acceptable en phase amorphe d'une céramique poreuse est de 14% [13]. Ainsi, E₀ et E₁₅ qui ont respectivement 27% et 17% de phase amorphe sont conformes aux normes. L'éprouvette E₁₅ est celle qui regrouperait les propriétés optimales pour être utilisée comme filtre.

5. Conclusion

Les résultats obtenus au cours de ce travail témoignent de l'importance que l'on peut accorder à la quantification des phases en vue de prédire la qualité du matériau élaboré. Trois nuances de céramiques poreuses ont été élaborées avec des mélanges argile-coque d'arachides. Les propriétés physico-chimiques de ces éprouvettes varient avec la teneur en coque d'arachide. En effet, la porosité, la densité

et l'absorption d'eau présente des résultats appréciables pour certaines éprouvettes. Les résultats des essais aux chocs thermiques ont montré que les éprouvettes ont une résistance moyenne aux chocs thermiques. La teneur en phase amorphe de 27%; 17% et 8% respectivement pour E0 ; E15 et E25, augmente avec la diminution du taux de coque d'arachide. L'évolution des propriétés des éprouvettes est fonction des quantités des différentes phases minéralogiques (cristallines et amorphe) présentes dans les échantillons. De tous ce qui précède, l'éprouvette E₁₅ est celle qui regrouperait les propriétés optimales pour être utilisée comme céramique poreuse.

Références bibliographiques

- [1] **H. Kou, W. Li, X.Zhang, J. Shao, P. Geng, Y. Deng, J. Ma (2016)** : Effects of mechanical shock on thermal shock behavior of ceramics in quenching experiments. *Ceramics International*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ceramint.2016.10.021>
- [2] **M. Sawadogo, I. Sanou, Y. Dah, B. Traoré, Y. Sawadogo, D. Samaké, C. Dembelé, L. Zerbo, M. Seynou (2021)** : Résistance aux chocs thermiques et aux attaques chimiques de briques réfractaires à base d'argile kaolinique et de sable. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie J. Soc. Ouest-Afr. Chim.* 050 : 50 – 56.
- [3] **M. Seynou, P. Flament, M. Sawadogo, J. Tirlocq, R. Ouedraogo (2013)**: Refractory bricks based on Tikaré (Burkina Faso) kaolinitic raw clay material: *J. Soc. Ouest-Afr. Chim.* 035, 49 – 56.
- [4] **O. Bobet, M. Seynou, L. Zerbo, H. Bamogo, I. Sanou, M. Sawadogo (2020)** : Propriétés mécanique, hydrique et thermique de briques en terre crue amendées aux coques d'arachide. *J. Soc. Ouest-Afr. Chim.* 049 : 54 – 64 25^{ème}Année, Juin 2020 ISSN 0796-6687 Code Chemical.
- [5] **J. Poirier (2011)**: Les céramiques réfractaires de l'élaboration aux propriétés d'emploi. *Verres Céramiques et Composites*, 1, 28-42
- [6] **M. Sawadogo, M. Seynou, L. Zerbo, B. Sorgho, A. Yameogo, Y. Millogo, R. Ouedraogo (2016)** : Densification behaviour of chamotte chamotte for refractory bricks: mineralogy and microstructure. *J. Soc. Ouest-Afr. Chim.* 041 ; 1- 10

Valorisation des déchets agricoles au Togo : Production et caractérisation physico-chimique des briquettes

Adjo Cynthia^{1*}, Kokou Agbékonyi AGBODAN, Lumo AWAGA, Koffi KOUAKOU JONDO.

Laboratoire de Génie des Procédés et Ressource Naturelles (LAGEPREN) du département de Chimie, Université de Lomé, Faculté Des Sciences (FDS), Université de Lomé, 01BP 1515 Lomé 01, Togo.

Auteur correspondant, lorianekouakou8@gmail.com

Résumé : Les ressources en matières premières et énergétiques, en particulier en pétrole, sont devenues une préoccupation majeure à l'échelle de la planète. Ainsi, plusieurs activités humaines et diverses combustions incomplètes de biomasses lignocellulosiques, la carbonisation et les feux de forêt entraînent des rejets d'oxyde d'azote, de monoxyde de carbone et d'autres gaz nocifs dans l'atmosphère et contribuent négativement à l'alerte climatique [1]. La nécessité de réduire l'empreinte carbone des activités humaines associées à la très forte demande sociale pour des industries plus sûres et moins polluantes a provoqué une forte évolution de la chimie industrielle. À cet effet, l'étude des relations entre l'organisation à l'échelle atomique, la microstructure et les propriétés des matériaux, constitue le domaine de la science des matériaux. Cette science est complétée par le génie des matériaux. La dégradation de l'environnement, la déforestation, la raréfaction des ressources sont autant de raisons qui poussent aujourd'hui à produire, consommer autrement, à valoriser nos déchets et nos produits agricoles. Notre but est de valoriser nos produits dans les secteurs agricole et agro-industriel qui génèrent une énorme quantité de déchets pour la production du charbon écologique tout en déterminant le pouvoir calorifique et faire des études physico-chimiques. Le bois-énergie demeure incontestablement la principale source d'énergie de cuisson des pays de l'Afrique. Sa consommation est estimée à plus de trois-quarts de la consommation en énergie des ménages. Selon Abassi et al [2], sa consommation est largement dominée par 72% de bois de feu contre l'utilisation de 28% pour la production de charbon de bois. L'utilisation du bois comme source d'énergie est répartie de manière très inégale dans le monde, et cela dépend principalement des pays et de leur mode de vie. Cela concerne environ 0,7 % dans les pays industrialisés et 20 % dans les pays développés [3]. Cependant l'intérêt d'une substitution des énergies dites « traditionnelles » par d'autres formes d'énergie est extrêmement délicate pour résoudre beaucoup de problème à savoir la déforestation et la pollution.

Mots clés : Biomasse, Briquettes, Matériau, Combustibles, valorisation.

Abstract : Raw material and energy resources, particularly petroleum, have become a major global concern. Thus, several human activities and various incomplete combustions of lignocellulosic biomasses, carbonization and forest fires result in the release of nitrous oxide, carbon monoxide and other harmful gases into the atmosphere and contribute negatively to the climate alert [1]. The need to reduce the carbon footprint of human activities combined with the very high social demand for safer and less polluting industries has caused a strong evolution of industrial chemistry. To this end, the study of the relationships between the organization at the atomic scale, the microstructure and the properties of materials, constitute the field of materials science. This science is complemented by materials engineering. The degradation of the environment, deforestation, and the scarcity of resources are all reasons that push us today to produce and consume differently, to valorize our waste and our agricultural products. Our goal is to valorize our products in the agricultural sector and agro-industry which generate an enormous quantity of waste for the production of ecological coal while determining the calorific value and making physicochemical studies. The wood-energy remains unquestionably the main source of energy for cooking in African countries. Its consumption is estimated at more than three-quarters of household energy consumption. According to Abassi et al [2], its consumption is largely dominated by 72% of firewood use against 28% for charcoal production. The use of wood as an energy source is distributed very unevenly in the world, depending mainly on the countries and their lifestyle about 0.7%

in industrialized countries and 20% in developed countries [3]. However, the interest of a substitution of the so-called "traditional" energies by other forms of energy is extremely delicate to solve many problems, namely deforestation and pollution.

Keywords: Biomass, Briquettes, Material, Fuels, Valuation.

1. Introduction

Le bois-énergie demeure incontestablement la principale source d'énergie de cuisson des pays de l'Afrique de l'Ouest et du Nord. Sa consommation est estimée à plus de trois-quarts de la consommation en énergie des ménages. Selon Abassi et al [2], sa consommation est largement dominée par 72% de bois de feu l'utilisation contre 28% pour la production de charbon de bois. L'exploitation du bois de chauffe expose les forêts à des dégradations importantes et à des risques environnementaux majeurs. L'utilisation du bois comme source d'énergie est répartie de manière très inégale dans le monde, dépendant principalement des pays et de leur mode de vie (environ 0,7 % dans les pays industrialisés et 20 % dans les dans les pays développés [3]. C'est pourquoi de nombreux projets voient le jour proposant une variété des sources d'énergie domestique afin de diminuer la pression exercée sur les ressources forestières. Cependant l'intérêt d'une substitution des énergies dites « traditionnelles » par d'autres formes d'énergie est extrêmement délicate pour résoudre beaucoup de problème à savoir la déforestation et la pollution. Dans ce cadre, une stratégie nationale de reboisement a été initiée depuis 1988, avec un important objectif de reboisement visant à atteindre à l'horizon 2020 un taux de boisement national de 15 % [4]. Ce contexte, stipule que le charbon vert semble être une alternative très séduisante au bois-énergie. Il est un charbon produit à partir de résidus biodégradables riches en carbone, principalement à partir de résidus agricoles et de résidus ménagers. En théorie, il a une production similaire au charbon de bois tant par son aspect que par son utilisation qui permet d'éviter la coupe des arbres. La Tunisie a ratifié le protocole de Kyoto en 2006 visant la diminution des émissions de gaz à effet de serre. Des études antérieures sur l'usage des bois [5-9] montrent que ces techniques génèrent une pollution atmosphérique très importante et conduisent à un faible rendement de conversion (inférieur à 15 %) [10, 11]. L'objet de cette étude portera sur la valorisation des déchets dans le domaine des agro matériaux pouvant permettre la fabrication des briquettes combustibles, caractériser, déterminer la température optimale de séchage et déterminer la perte de masse.

2- Matériel et méthodes

2-1 Présentation du site

Les biomasses ont été collectées dans quatre villages à savoir : Afagnan, Vogan, Tsévié, Aného. Les déchets domestiques et industriels biodégradables à forte teneur en carbone ne sont pas épargnés vue la grande variété de biomasse existant, autres que le bois, les résidus de charbon, les résidus agricoles et agro-industriels (coque d'arachide, coque de la noix de palme, paille de riz, paille de maïs, tige de maïs, tige de manioc, Rafle de maïs, tige de papaye, etc.), dans la production du charbon vert. La matière première conditionnera la technologie à adopter et la qualité du charbon produit.

2-2 Cadre théorique

Les travaux de recherches s'effectueront au sein de l'Université de Lomé (UL) dans le laboratoire de Génie des Procédés et des Ressources Naturelle (LAGEPREN), du département de chimie de la faculté des Sciences (FDS) et à l'Université Claude Bernard LYON 1.

2-3 Préparation de la matière première

Les biomasses comme : coque d'arachide, coque de la noix de palme, paille de riz, paille de maïs, tige de maïs, tige de manioc, Rafle de maïs, tige de papaye, etc.), qui ont été collectées à Afagnan, Vogan, Tsévié, Aného. Ces déchets seront déshydratés. La déshydratation est une technique qui permet l'évaporation de l'eau contenue dans les différentes biomasses.

2.3.1- Carbonisation ou absence de la carbonisation

La pyrolyse est appelée également, l'étape de carbonisation qui consiste à chauffer à des températures varient entre 350 et 650 °C en absence de l'oxygène (ou en présence d'une très faible quantité d'oxygène ou d'air, destinée à apporter, par combustion très partielle, l'énergie nécessaire au processus de pyrolyse). Elle émet moins de fumées ce qui permet la diminution de la pollution de l'environnement, et aussi une valorisation énergétique des déchets avec l'obtention de meilleurs rendements comparés aux incinérateurs classiques.

2.3.2- Préparation de liant

Les produits obtenus de la pyrolyse ou de la carbonisation sont généralement sous forme de poudre. Cette poudre est mélangée à un liant spécifique afin de permettre son compactage de la matière.

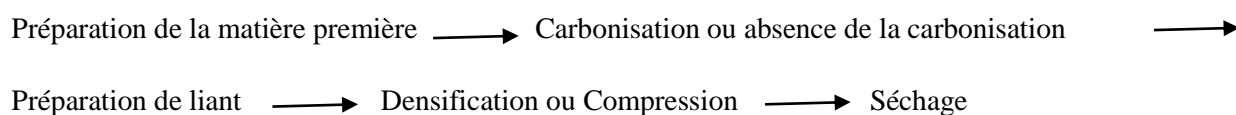
2.3.3- Densification ou Compression

Cette étape montre une grande diversité de techniques utilisées : le compactage peut se réaliser à l'aide de presse manuelle ou industrielle en fonction du niveau de mécanisation choisie. La capacité de production est influencée par le choix de la presse.



2.3.4- Séchage

Il a pour but d'éliminer la quantité d'eau dans les briquettes afin d'améliorer la combustion. Le séchage peut se faire à l'air libre ou dans un four.



3- Résultats et discussions

Tableau 1 : Caractéristiques physico-chimiques (pH et conductivité) pour la matière non carbonisée

Matière	pH	σ
Coque de noix de coco	6,32	2,11 ms/cm
Coque d'arachide	5,27	1426 us/cm
Coque de noix de palmiste	6,15	1297 us/cm
Rafles Les rafles de maïs	5,97	1110 us/cm
Tige de maïs	7,44	1768 us/cm
Tige de papaye	7,27	993us/cm
Tige de manioc	7,71	1115us/cm
Paille de maïs	6,21	2,03 ms/cm
Sciure de Bois	6.27	1049 us/cm

Tableau 2 : Caractéristiques physico-chimiques (pH et de la conductivité) pour la matière carbonisée

Matière	PH	σ
Coque de noix de coco	10,27	10,04 ms/cm

Coque d'arachide	9,15	1446 us/cm
Coque de noix de palmiste	9,27	2,14 ms/cm
Rafles Les rafles de maïs	9,68	4,20 ms/cm
Tige de maïs	10,23	9,02 ms/cm
Tige de papaye	10,06	6,26 ms/cm
Tige de manioc	9,52	7,88 ms/cm
Paille de maïs	8,64	962 us/cm
Sciure de Bois	7,46	1257 us/cm

Tableau 3 : Caractéristiques physico-chimiques (densité apparente) pour la matière consolidée

Matière	d_{app}
Tige de maïs	1,17
Rafles de maïs	1,08
Paille de maïs	0,890

Tableau 4 : Caractéristiques physico-chimiques (TH, TMV,TC,TCF,COT) pour la matière non carbonisée

Matière	Taux d'humidité	Taux de matière volatiles	Taux de cendre	Taux de carbone fixe	COT
Coque de noix de coco	21,39	80,86	10,28	23,78	47,29
Sciure de Bois	19,34	62,42	35,28	6,14	36,50

A L'étuve à 105°C

	0h	2h	4h	6h	8h	10h	12h	14h	16h
Coque de noix de coco	163,96g	123,28g	106,53g	98,53g	91,51g	91,28g	91,23g	91,22g	91,22g

Les propriétés physiques de certaines biomasses du Togo :

La performance et la qualité des briquettes sont déterminées à partir des paramètres physico-chimiques tels que le pH, la densité, la teneur en humidité et le pouvoir calorifique, etc. La teneur en humidité, le pH, la densité, le taux de matière volatiles, le taux de cendre et le taux de carbone fixe ont été mesurés sur chaque échantillon des biomasses. Les pH des résidus agricoles les plus basiques sont ceux des tiges de papaye, des tiges de maïs et des coques de noix de coco qui ont respectivement 10,06 ; 10,23 et 10,27 comme l'indique le tableau 2. Ces éléments étaient tous acides avant la carbonisation comme l'indique le tableau 1. Les résultats de la teneur en humidité, les matières volatiles sont regroupés dans le tableau 4. Ils varient de 21,39% et de 80,86% pour les coques de noix de coco alors qu'ils indiquent 19,34 % et 62,42 % pour les sciures de bois. Selon Boonstra et al, les espèces ayant une faible densité sont généralement plus résistantes au traitement thermique que celle des densités plus élevées. Cela se confirme sur nos matériaux consolidés faits à base des biomasses (tige de maïs, rafles de maïs, paille de maïs) ou nous avons trouvé 1,17 ; 1,08 ; et 0,890. Entre le séchage qui a été fait à l'étuve (105°C) et au

soleil, il y a une stabilité de l'échantillon variant de 16 h à 24 h pour l'étuve et de 5 jours à 7 jours pour le séchage au soleil.

4- Conclusion

L'activité humaine se centralise sur l'usage énergétique, car pour se nourrir, pour se divertir, pour se déplacer, pour construire, pour se réchauffer, l'homme a besoin de l'énergie sous une forme ou une autre. Les résultats pertinents issus de la présente étude doivent avoir une fin utile comme l'élaboration du biochar qui sera utilisé dans les ménages et dans les industries. L'implantation de nouvelles industries de fabrication de biocombustibles va générer de l'emploi. L'usage des briquettes permet la diminution massive du recours au combustible fossile, la préservation de l'écosystème en réduisant le dégagement des gaz à effet de serre, le développement socio-économique, et la protection de l'environnement. En outre de ses résultats, les cendres issues du biochar améliorent les propriétés pédologiques (Physique, chimique et biologique) du sol, ont une capacité de retenir l'eau dans le sol, et sont des niches écologiques pour les bactéries, les nutriments, et les microbes. Elles seront valorisées et utilisées comme engrais avec leur pH basique variant de [7 à 13].

5- Reference bibliographique

1. Dusserre, P.: Study of wood boilers: contribution to measuring the emission of unburned compounds has the evaluation of energy efficiency and the modeling of the combustion. Thesis [in French], Institut National des Sciences Appliquées de Lyon (1986)
2. Abbassi, M.A., Guedri, K., Ghulman, H.A., Al-Ghamdi, A.S.: Modelling and experimental results of a biomass pyrolysis pilot plant. 10th International Conference on Heat Transfer, Fluid Mechanics and Thermodynamics, Orlando, pp. 2147–2154 (2014)
3. Lacaux, J.P., Cachier, H., Dalmas, C.: The ecological, atmospheric, and climatic importance of vegetation fires. In: Crutzen, P. J., Goldammer, J.G. Wiley, pp. 45–53 (1993)
4. El Hamrouni A.: Observatoire Tunisien de l'Environnement et du Développement Durable: Sustainable forests, Tunisia, p. 48(2005) http://www.environnement.gov.tn/fileadmin/medias/pdfs/observatoire/rapport_foret.pdf
5. Vergnet, A.M., Villeneuve, F.: Analytical techniques applicable to liquids and gases resulting from the pyrolysis of the tropical biomass. Bois et Forêts des Tropiques 9 (1988)
6. Beaumont, O.: Extractive pyrolysis of wood. Thesis [in French], Ecole Normale Supérieure des Mines de Paris, France (1981)
7. Essayegh, M.: Analytical study of pyroligneous juice. Thesis [In French], Université Pierre et Marie Curie de Paris, France (1988)
8. Halouani, K., Farhat, H.: Depollution of atmospheric emissions of wood pyrolysis furnaces. Renewable Energy, Volume 28, Issue 1, January 2003, pp. 129–138 (2003)
9. Girard, P., Meyer, C., Fontelle, J.P., Boillot, M.: Characterization of emissions from carbonization performed in partial combustion furnace. Development of treatment system for fumes issued from carbonization process [In French]. 4^{ème} Conférence Européenne, Application de la biomasse pour l'énergie et l'industrie, Orléans, France (1987)
10. Gassara, M., Halouani, K., Rekik, L.: Installation for wood carbonization in a metal furnace [In French]. Brevet d'invention no. 16660 de livrer par l'Institut National de la Normalisation et de la Propriété Industrielle (INNORPI), Tunisie (1994)
11. Girard, P.: Wood energy to satisfy the needs of developing countries. The Grassroots Approach to Development. The international role of Japan, The Club of Rome Conference, Japan, Tokyo July 1–5 (1990)
12. Ascough, P.L., Bird, M.I., Scott, A.C., Collison, M.E., CohenOfri, I., Snape, C.E., Le Manquais, K.: Charcoal reflectance measurements: implications for structural characterization and assessment of diagenetic alteration. J. Archaeol. Sci. 37(7), 1590–1599 (2010)

EFFET DE LA CENDRE DES BALLE DE RIZ SUR L'ACTIVATION DE LA GEOPOLYMERISATION D'UNE ARGILE KAOLINITE DU TOGO

ANOVE Komla Mawoulikplim^{1*}, TCHEGUENI Sanonka¹, DEGBE Koffi Agbegnigan¹, TCHANGBEDJI Gado¹
Laboratoire GTVD (Gestion Traitement et Valorisation des Déchets), Faculté Des Sciences, Université de Lomé,
BP : 1515, Lomé, TOGO

*Correspondance : manove05@gmail.com

Résumé : Les liants géopolymères constituent une alternative favorable pour la protection de l'environnement au ciment Portland, réputé pour sa contribution à l'émission de gaz à effet de serre. Ce travail a pour objectif d'étudier l'influence de l'addition de cendre de balle de riz sur la géopolymérisation d'une argile kaolinite locale avec une solution alcaline. La cendre blanche a été obtenue par calcination des balles de riz à 600°C. Cette cendre a été appliquée pour produire des solutions de silicates de sodium avec différents rapports molaires SiO₂ / Na₂O (0,15 ; 0,30 et 0,46) puis utilisées pour synthétiser des liants géopolymères (GP1/GP2/GP3) à base de l'argile calcinée à 750°C. Les propriétés mécaniques des matériaux élaborés ont été déterminées. Les résultats montrent que les matériaux consolidés ont des meilleures propriétés mécaniques pour un rapport massique 0,30. La solution à base de cendre de balle de riz s'est avéré être un activateur alcalin efficace dans la synthèse de ces liants. Il est donc possible de remplacer la solution de silicate de sodium commerciale en utilisant des balles de riz comme sources de silice afin de synthétiser les matériaux écologiques. Une étude plus poussée permettra d'améliorer les propriétés mécaniques de ces liants dans nos travaux futurs.

Mots clés: Géopolymère ; métakaolin ; silicate, cendre.

Abstract : Geopolymeric binders are a favorable alternative for environmental protection to Portland cement, known for its contribution to greenhouse gases emissions. The objective of this work is to study the influence of rice husk ash addition on the geopolymerization of a local kaolinite clay with an alkaline solution. The white ash was obtained by calcining the rice husks at 600°C. This ash was applied to produce sodium silicate solutions with different mass ratios SiO₂ / Na₂O (0.15; 0.30; 0.46) and then used to synthesize from geopolymer binders (GP1/GP2/GP3) based on calcined clay at 750°C. The mechanical properties of the elaborated materials were determined. The results show that the consolidated materials have better mechanical properties for a mass ratio of 0.3. Rice husk ash solution was found to be an effective alkaline activator in the synthesis of these binders. It is therefore possible to replace the commercial sodium silicate solution by using rice husks as a source of silica to synthesize geopolymeric materials. Further study will improve the mechanical properties of these binders in our future work.

Key words: Geopolymer, metakaolin; silicate, ash.

I. INTRODUCTION

Les géopolymères sont récemment apparus comme une nouvelle classe de polymères d'aluminosilicates inorganiques matériaux. Le terme géopolymère a été introduit par Davidovits au début des années 1970 pour désigner leurs polymères inorganiques et leur similitude structurelle aux polymères organiques et est couramment utilisé de nos jours [1]. Les géopolymères sont une nouvelle classe de polymères inorganiques qui ont été considérés comme de bons matériaux candidats pour de nombreuses applications. Ces polymères inorganiques sont obtenus par polycondensation d'espèces monomères ou oligomères d'aluminium et de silicium dans des solutions activées par un métal alcalin.

Les précurseurs de géopolymère peuvent être obtenus à partir de différentes sources d'aluminosilicate telles que le métakaolin, scories volcaniques, les cendres etc [2].

En général, toute poudre contenant de fortes teneurs en silice et en alumine et possédant une phase amorphe peut être considérée comme précurseur de géopolymère. Cependant leur choix peut dépendre de plusieurs facteurs parmi lesquels la disponibilité, le coût et le type d'application. Il existe aussi une large gamme de matériaux susceptibles d'être activés, dont les argiles calcinées ou non calcinées [3, 4], les sous-produits industriels ou agricoles [5,6].

Le riz est l'une des principales cultures vivrières au monde. Sa production génère une grande quantité de déchets dans le monde, à savoir la balle de riz. Le Togo fait partie des pays qui produisent du riz en Afrique. La production du riz dans les différentes régions du Togo génère une grande quantité de balle de riz. Actuellement, n'ayant pas de publicité valeur en soi, la balle de riz finit généralement par brûler dans les espaces ouverts, causant ainsi problèmes de pollution et d'élimination. Afin d'économiser l'énergie et les ressources, des efforts ont été fait pour brûler les balles de riz dans des conditions contrôlées et utiliser le matériau résultant comme source de silice [8] pour produire des solutions de silicates de sodium, ce qui est très important lors de la synthèse de géopolymères

La fabrication d'une solution commerciale de silicate de sodium est énergivore car les synthèses impliquent du sable de silice et du carbonate de sodium traités à environ 1400 ° C. Ce processus est considéré comme très coûteux en raison de la consommation d'énergie avec le carburant brûlant pour atteindre une température élevée. En plus de produire, il y a une pollution atmosphérique considérable par des émissions telles que le dioxyde de carbone, la poussière, l'azote et les oxydes de soufre. La synthèse des solutions à partir de silice pure obtenue uniquement par des cendres de balles de riz avec des pastilles d'hydroxyde de sodium et l'eau distillée comme matière de départ et son utilisation pour produire des ciments géopolymères à base d'argiles pourraient être très intéressés.

Dans ce travail, l'étude porte sur la valorisation des matériaux locaux du Togo, à savoir l'argile kaolinite et les cendres de balles de riz, dans la synthèse de liants géopolymères et spécifiquement étudier l'influence de l'addition de cendre de balle de riz sur les propriétés mécaniques des liants géopolymères.

II. METHODOLOGIE

2.1. L'argile kaolinite et la cendre des balles de riz

L'argile kaolinite a été prélevée au sud du Togo. Elle a été concassée, séchée, broyée puis tamisée à 75µm. La poudre de ce kaolin a été calcinée à 750°C pendant 2 h à une vitesse de chauffage de 10° C / min dans un four électrique pour obtenir du métakaolin (MK) hautement réactif [7] dans la synthèse des géopolymères.

La cendre blanche a été obtenue par calcination des balles de riz à 600 °C pendant 2 heures. Elle est ensuite broyée et les poudres obtenues ont une granulométrie de 75 µm.

2.2. Préparation des solutions alcalines

Quatre solutions ont été préparées : une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium (S₀) de concentration 12M et trois solutions de silicates de sodium (S₁, S₂ et S₃) à base de la cendre de balles de riz avec la solution de la soude précédente dont les rapports molaires SiO₂/ Na₂O sont respectivement 0,15 ; 0,307 et 0,46.

2.3. Synthèse des échantillons géopolymères

Quatre types de géopolymères (GP₀, GP₁, GP₂ et GP₃) ont été synthétisés en fonction de la nature de la solution alcaline (S₀, S₁, S₂ et S₃).

Le rapport massique (poudre argileuse calcinée / solution alcaline) de 1,25 a été utilisé pour la formulation des pâtes. Après façonnage des liants dans les moules (diamètre 30mm, hauteur 30mm), les matériaux sont démoulés après 24h et laissés à la température ambiante pendant 28 jours pour être caractériser.

2.4. Caractérisations des matières premières et les échantillons géopolymères

La composition chimique de la cendre de balles de riz et de l'argile kaolinite a été faite par spectroscopie d'émission atomique à source plasma couplé inductif (ICP-OES, Agilent 5110 Dual View).

Les essais de compressions ont été réalisés sur les géopolymères (30mm * 20mm) à l'aide de l'appareil Controls Vitesse.

III. RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. Caractérisation des matières premières

Les analyses chimiques ont été réalisées sur l'argile kaolinite et la cendre. Leurs compositions en oxydes (en % massique) et leur perte au feu sont données dans le [tableau 1](#).

Les résultats de l'analyse des éléments majeurs ont montré que l'argile kaolinite est constituée essentiellement de la silice SiO_2 et de l'alumine Al_2O_3 alors que K_2O , Fe_2O_3 , MgO , Na_2O , TiO_2 et P_2O_5 sont présents en faibles quantités.

La cendre est très siliceuse (91,6%). Elle renferme encore des imbrûlés (LOI de 5,5 %). Sa teneur en alumine est très faible (1,28 %).

Tableau 1 : Composition chimique élémentaire de la cendre de balle de riz et de l'argile kaolinite en éléments majeurs

% massique	Al_2O_3	SiO_2	CaO	Fe_2O_3	K_2O	MgO	MnO	P_2O_5	TiO_2	Na_2O	LOI
Argile kaolinite	34,9	43,8	0,14	3,60	0,24	0,146	0,003	0,04	1,39	0,1	15,7
Cendre de balle de riz	1,28	91,6	0,52	0,53	1,49	0,314	0,11	0,33	0,09	0,1	5,5

La cendre peut être un additif ou un précurseur potentiellement utile pour la synthèse des liants géopolymères lorsqu'elle est utilisée en quantités appropriées [8].

3.2. Caractérisation des géopolymères élaborés (Résistance à la compression)

Les quatre matériaux élaborés ont subi des essais de compression et la [figure 1](#) montre les différentes valeurs de la résistance à la compression après 28jours.

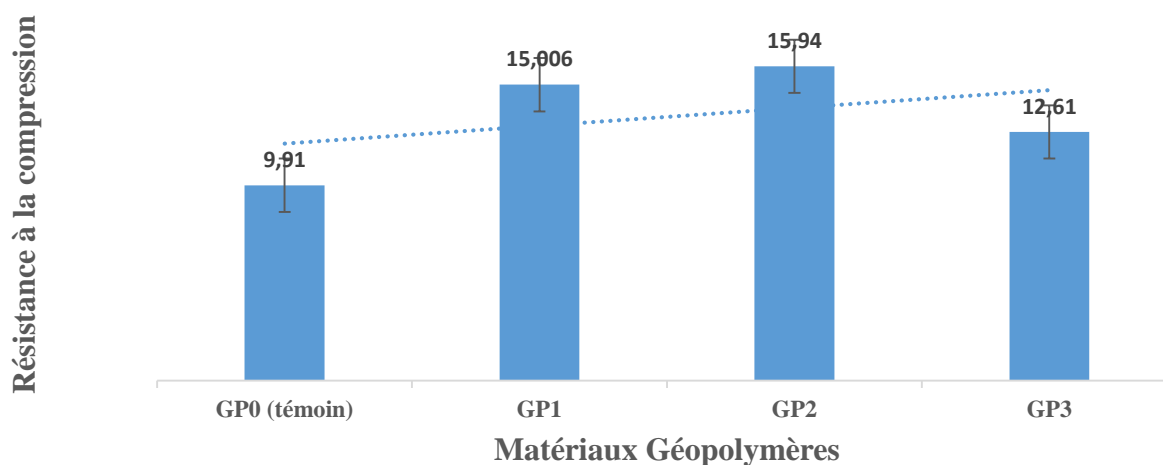


Figure 1 : la résistance à la compression des matériaux géopolymères

La résistance à la compression des géopolymères (figure 1) augmente lorsque le rapport $\text{SiO}_2/\text{Na}_2\text{O}$ de la solution varie de 0 à 0,30 et diminue pour 0,46 mais reste supérieure au témoin (sans cendre). Ces résultats montrent que l'ajout des cendres a augmenté la résistance à la compression jusqu'à une certaine valeur (près de 60,84%). Il semble que la résistance à la compression maximale ait été obtenue lorsque le rapport $\text{SiO}_2 / \text{Na}_2\text{O}$ dans la solution de silicate de sodium préparée était de 0,30. Ainsi donc pour ces pâtes, le taux optimal pour lequel l'augmentation de la résistance est la plus importante est le rapport 0,3 (GP₂). Nous pouvons dire que la gamme de formulation de géopolymères accessibles est limitée par la gamme de solution de silicate alcaline. En effet, au-delà d'une certaine concentration en silice, il y a apparition d'hétérogénéités et/ou gélification de ces solutions ce qui a rendu le matériau GP₃ moins résistant.

Ces résultats montrent que l'ajout des cendres a augmenté la résistance à la compression jusqu'à une certaine valeur et cela peut s'expliquer par le fait qu'une grande partie du métakaolin est dissoute par

le silicate de sodium puis transformée, en majorité, en gel ou géopolymère, d'où l'augmentation de la résistance à la compression. Cet ajout permet d'améliorer les propriétés mécaniques des liants géopolymères [3,8]. L'addition de la cendre de balle de riz, en augmentant la quantité de silice amorphe dans le mélange complexe d'aluminosilicate, favoriserait la libération des espèces silicates pendant la phase de dissolution par hydrolyse alcaline [9,10]. Les solutions alcalines utilisées étant très concentrées, il en résulte la formation d'un gel constitué d'un large réseau tridimensionnel d'aluminosilicate responsable de la liaison entre particules du matériau formé, leur permettant de résister.

IV. CONCLUSION

Les techniques expérimentales utilisées pour la caractérisation, nous ont permis de déterminer les compositions chimiques de l'argile kaolinite et de la cendre de balles de riz. Les résultats obtenus nous ont montré que la cendre est riche en silice donc peut être un additif ou un précurseur potentiellement utile pour la synthèse des liants géopolymères lorsqu'elle est utilisée en quantités appropriées. Pour obtenir ces liants, l'argile a subi un traitement thermique transformant les phases cristallines en phases amorphes réactives. Ces phases amorphes contribuent à la réaction de géopolymérisation et déterminent les propriétés finales des géopolymères. Ainsi l'ajout de la cendre a influencé les propriétés de ces liants et a montré que la meilleure formulation est celle dont le rapport molaire de la solution de silicate préparée est de 0,30. L'utilisation la cendre de balle de riz comme précurseur potentiellement pour la géopolymérisation a permis d'améliorer les résistances mécaniques.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] J. Davidovits, Geopolymer: Chemistry and Applications, second edition, St- Quentin, France, 2008.
- [2] Phair, J.W. & van Deventer, J.S.J. Characterization of fly-ash-based geopolymeric binders activated with sodium aluminate. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 41, 4242-4251 (2002).
- [3] H.K. Tchakouté, C.H. Rüscher, S. Kong, E. Kamseu, C. Leonelli, Geopolymer binders from metakaolin using sodium waterglass from waste glass and rice husk ash as alternative activators: A comparative study, *Constr. Build. Mater.* 114, 276–289, (2016). **doi:10.1016/j.conbuildmat.2016.03.184**
- [4] S.A. Bernal, E.D. Rodríguez, R. Mejia de Gutiérrez, J.L. Provis, S. Delvasto, Activation of Metakaolin/Slag Blends Using Alkaline Solutions Based on Chemically Modified Silica Fume and Rice Husk Ash, *Waste Biomass Valorization*. 3, 99–108, (2012). **doi:10.1007/s12649-011-9093-3**.
- [5] J.S.J. van Deventer, J.L. Provis, P. Duxson, G.C. Lukey, Reaction mechanisms in the geopolymeric conversion of inorganic waste to useful products, *J. Hazard. Mater.* 139, 506–513, (2007). **doi:10.1016/j.jhazmat.2006.02.044**.
- [6] J. He, Y. Jie, J. Zhang, Y. Yu, G. Zhang, Synthesis and characterization of red mud and rice husk ash-based geopolymer composites, *Cem. Concr. Compos.* 37, 108–118, (2013). **doi:10.1016/j.cemconcomp.2012.11.010**.

Amélioration de la résistance à la corrosion d'un alliage d'aluminium recyclé artisanalement par un traitement au 3-aminopropyltriéthoxysilane (APTES) par processus sol-gel.

Ousmane Tapsoba*¹, Tambi Ramdé¹, Boubié Guel¹, Lucien Bonou¹

*Laboratoire de chimie Moléculaire et des Matériaux, UFR/SEA, Université Joseph KI-ZERBO
03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso*

Résumé

Dans ce travail, la microstructure d'un alliage d'aluminium produit par recyclage de déchet métallique a été étudiée. Cette analyse a montré qu'en plus de la phase principale constituée par la matrice d'aluminium et qui représente entre 80 et 90% du matériau, il existe de nombreuses phases secondaires constituées de fines particules eutectiques, d'inclusion de silice et de nombreux défauts de structure. Un revêtement hybride organique/inorganique a été développé sur ce substrat d'aluminium par voie sol-gel et séché à des températures entre 100 et 200 °C. Les caractéristiques chimiques du revêtement ont été analysées par la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier. Les propriétés anticorrosion du revêtement ont été étudiées dans une solution de NaCl 3,5% en masse par la technique classique de polarisation potentiodynamique et la spectroscopie d'impédance électrochimique.

Mots clés : Aluminium recyclé; anticorrosion ; polarisation potentiodynamique ; impédance électrochimique.

Improvement of the corrosion resistance of a home-made recycled aluminium alloy by treatment with 3-aminopropyltriethoxysilane (APTES) by sol-gel process.

Abstract

In this work, the microstructure of an aluminium alloy produced by recycling waste metal was studied. This analysis showed that in addition to the main phase consisting of the aluminum matrix and which represents between 80 and 90% of the material, there are numerous secondary phases consisting of fine eutectic particles, inclusion of silica and numerous structural defects. A hybrid organic/inorganic coating was developed on this aluminum substrate by sol-gel route and cured at temperatures between 100 and 200°C. The chemical characteristics of the coating were analyzed by Fourier transformer infrared spectroscopy. The anticorrosion properties of the coating were studied in a 3.5% NaCl solution by the classical technique of potentiodynamic polarization and electrochemical impedance spectroscopy.

Keywords: Recycled aluminum; anticorrosion; potentiodynamic polarization, electrochemical impedance.

1. Introduction

Dans la plupart des pays subsahariens, les déchets d'aluminium métallique sont systématiquement récupérés et recyclés pour la fabrication d'objets utilitaires tels les marmites et les cocottes et autres ustensiles de cuisine omniprésents dans le quotidien des populations [1-4]. Les ustensiles de cuisine en aluminium recyclé sont préférés en raison de leur faible coût, de leur durabilité, de leur disponibilité et de leur bonne conductivité thermique. L'utilisation de marmites fabriquées avec de l'aluminium recyclé a fait l'objet de nombreuses études [5-9]. Ces études ont montré que l'utilisation d'ustensiles en aluminium dans la cuisine constitue une voie de contamination des aliments en aluminium et d'autres métaux. [10-11]. Ramdé *et al.* ont montré, par une étude microstructurale, que les matériaux d'aluminium recyclés ne sont pas constitués de phases homogènes [5]. Ils ont mis en évidence des nombreuses particules intermétalliques, des défauts de structures (agglomérat de silice, pores...) et surtout des traces de métaux lourds comme le plomb, le cadmium, le zinc. Les défauts de structure observés dans les métaux recyclés, fragilisent les ustensiles et les rendent très sensibles à la corrosion aqueuse. Malgré son potentiel redox relativement faible de l'aluminium (-1,66 V/ENH) et la formation spontanée à sa surface d'une couche d'oxyde et d'hydroxyde à 4 < pH < 8,5), de l'aluminium et autres éléments d'alliage peuvent être transférés aux aliments pendant la cuisson ou le conditionnement selon deux mécanismes compétitifs [12], soit par une lente dissolution de la couche d'oxydes et d'hydroxydes qui se régénère par une oxydation lente du métal ; soit par une corrosion par piqûration dont l'une des causes est la présence de phases secondaires au sein de la matrice d'aluminium.

En dépit de l'abondance relative de publications consacrées à la microstructure, à la corrosion de l'aluminium recyclé à partir de la ferraille, très peu d'entre elles proposent un traitement pour améliorer sa résistance à la corrosion. L'objet de ce travail est de proposer un traitement de surface permettant de minimiser la lixivibilité de l'aluminium des récipients. Pour cela, nous avons réalisé sur le substrat d'aluminium recyclé un dépôt de film hybride organique/inorganique par voie sol-gel avec pour précurseur le 3-aminopropyltriéthoxysilane.

2. Matériaux et Techniques expérimentales

Les matériaux étudiés sont des échantillons d'aluminium recyclés destinés à la fabrication de marmites locales. Les échantillons sont moulés, dans un atelier de confection de marmite, sous formes rectangulaires de dimensions 8 cm x 4 cm x 3 mm dans des moules destructibles en sable, puis laissés au refroidissement à la température ambiante. Chaque échantillon brut a subi une préparation de surface consistant en un polissage métallographique sur papier à carbure de silicium de granulométrie décroissante de grades 400, 600, 800 et 1200. Après le polissage, les échantillons sont décapés dans un bac à ultra sont pendant 5 mn dans un bain d'éthanol, rincés à l'eau distillé puis séchés à la température ambiante.

Les caractérisations de surface ont été réalisées par microscopie optique (MO), électronique à balayage équipé de sonde EDS (Energy Dispersive Spectroscopy) (MEB-EDS).

Les dépôts de silane, ont été caractérisés par la spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (IR-TF) afin de s'assurer de l'effectivité du dépôt. La spectroscopie IRTF a servi à étudier la modification du film de l'organosilane en fonction de la température de réticulation.

Les propriétés protectives de la couche de silane ont été évaluées par la polarisation potentiodynamique et la spectroscopie d'impédances électrochimiques (SIE). Tous les tests électrochimiques ont été effectués dans une solution de NaCl à 3,5 g/L, en utilisant un montage à trois électrodes avec un Ag/AgCl/(KCl, 3M) comme électrode de référence (+0.205V/NHE) et un anneau de platine comme contre-électrode. Un appareil Metrohm AutoLab PGSTAT302N a été utilisé pour l'enregistrement des spectres d'impédance électrochimique et un potentiostat PAR 273A a été utilisé pour tracer les courbes de polarisation. Les paramètres d'impédances électrochimiques ont été calculés par modélisations des interfaces électrochimiques avec des circuits électriques équivalents par le logiciel ZsimpWin 3.50.

3. Résultats et discussions

3. 1. Analyse microstructurale

Un traitement au quisonitrate 2% permet l'observation des différentes phases. Le fond gris clair occupant 80 à 90% de la zone observée (**Figure 1**) est la matrice d'aluminium ; les points noirs assez répandus dans les échantillons sont des « nodules » de silicium. Selon la littérature, dans l'alliage eutectique se trouvent le plus souvent des cristaux primaires de silicium qui ne sont pas fondus. Lors de la recristallisation, ils apparaissent comme germes cristallins du silicium qui se retrouvent sous forme de nodules dans la matrice d'aluminium [13]. On observe également sur la même figure un autre type de phase secondaire filiforme qui serait composé d'un réseau de fines particules eutectiques dispersées dans la matrice d'aluminium: il s'agit des particules intermétalliques « grossières ». Ces particules intermétalliques apparaissent dans la microstructure des alliages d'aluminium suite aux interactions entre les éléments d'alliages et les impuretés présentes (silicium et fer) au cours de la fusion, dans l'état liquide ou lors de la solidification [14].

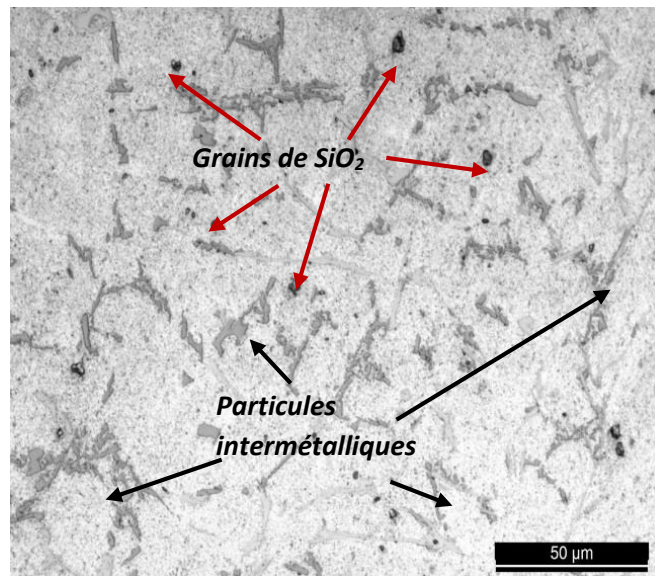


Figure 13: composition de phases : présence de particules intermétalliques et de quelques inclusion de nodule de silice

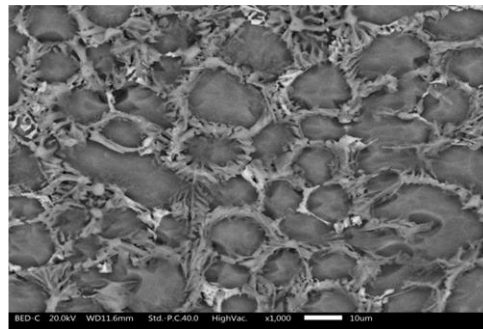


Figure 14: Micrographie obtenue au Microscopie Electronique à Balayage de la surface de l'alliage d'aluminium recyclé, polie et non attaquée

L'analyse de la micrographie obtenue au MEB nous révèle que les échantillons sont constitués de grains de formes arrondies ou allongées et de taille variable et sont délimités par des joints. La formation de ces phases, pourrait être liée au refroidissement lent après la mise en forme qui favorise une précipitation hétérogène.

Afin de déterminer la composition chimique relative du cœur des grains ainsi que des joints, nous avons réalisé un couplage MEB et EDS.

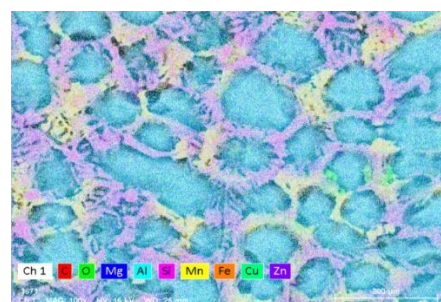


Figure 15 : cartographie EDS de l'ensemble des différents éléments chimiques constitutifs de l'alliage d'aluminium recyclé artisanalement

L'analyse des cartographies MEB couplés à l'EDS montre que les cœurs de grains de formes arrondies ou allongées sont essentiellement riches en éléments Al, Cu. Quant aux joints de grains, ils sont riches en Si, Fe, Cu, Mn et O.

Afin de mieux apprécier la composition chimique élémentaire des grains et joints de grains, une cartographie pour chaque élément a été réalisée. Des particules intermétalliques aux formes arrondies ou allongées et plutôt régulières dont la taille varie entre 1 et 100 µm peuvent être observées. Ces particules sont riches en éléments Al, Si, O, Cu, Fe, Mn, Mg et Zn.

L'analyse de la cartographie contenant les différentes particules intermétalliques (**Figure 4**) révèle que les particules contenant du silicium ne contiennent pratiquement pas de fer, manganèse et du cuivre, et réciproquement. Quant à l'oxygène, il se retrouve pratiquement dans les différentes particules intermétalliques.

Le silicium est le principal élément d'addition de ces alliages et cela pourrait s'expliquer par le fait que le silicium est l'un des constituants majeurs des alliages d'aluminium destiné à la fonderie, car il donne avec 87,3% d'aluminium un mélange eutectique fondant à 577 °C. Il permet ainsi d'abaisser la température de fusion des alliages et améliore leur coulabilité et par conséquent, permet de limiter les risques critiques que sont les fentes dans le métal.

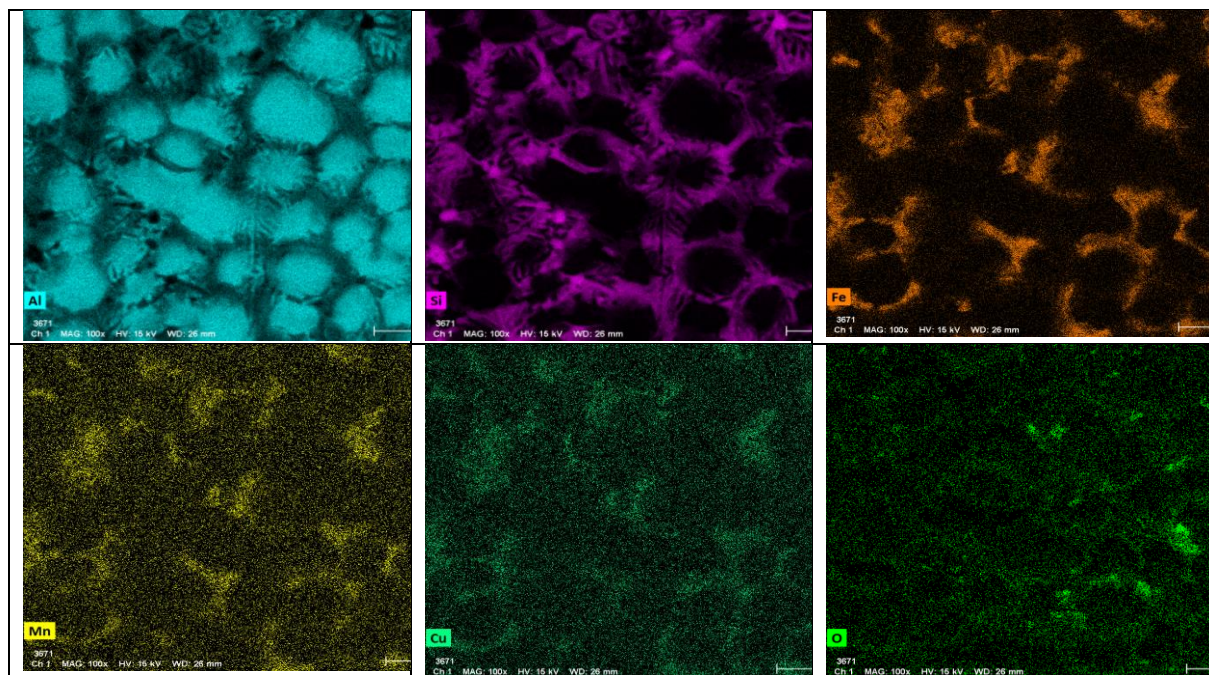


Figure 16 : cartographie X des échantillons d'aluminium

La provenance du silicium ainsi que des autres particules intermétalliques dans les alliages d'aluminium recyclés artisanalement serait certainement liée à l'utilisation en proportion très importante d'alliages issus de l'automobile (moteur, gèntes de voiture, carters cylindres, carters de vitesse....) des canettes de boisson.

Les alliages d'aluminium recyclé artisanalement ont une composition chimique très variée en éléments. Ceci est une conséquence des choix opérés par les fondeurs pour constituer les charges de fusion. Cette caractéristique témoigne de l'extrême diversité de la qualité et de la quantité des matériaux composant le gisement des déchets d'aluminium, et d'un approvisionnement chez le fondeur lui aussi diversifié et variable dans le temps.

3.2. Caractérisation du dépôt d'organosilane

L'hydrolyse de la molécule de silane dans le solvant et sa condensation sur le substrat sont des processus clés pour promouvoir l'adhérence du film sur le matériau. Pour confirmer la présence d'un revêtement de silane sur la surface du matériau, la spectroscopie Infra-rouge à Transformé de Fourier en mode réflexion totale atténuée (IRTF-RTA) a été utilisée pour étudier les groupes fonctionnels présents dans le film hybride O/I. La **figure 6** présente les spectres IRTF des échantillons traités au silane et réticulés à différentes températures

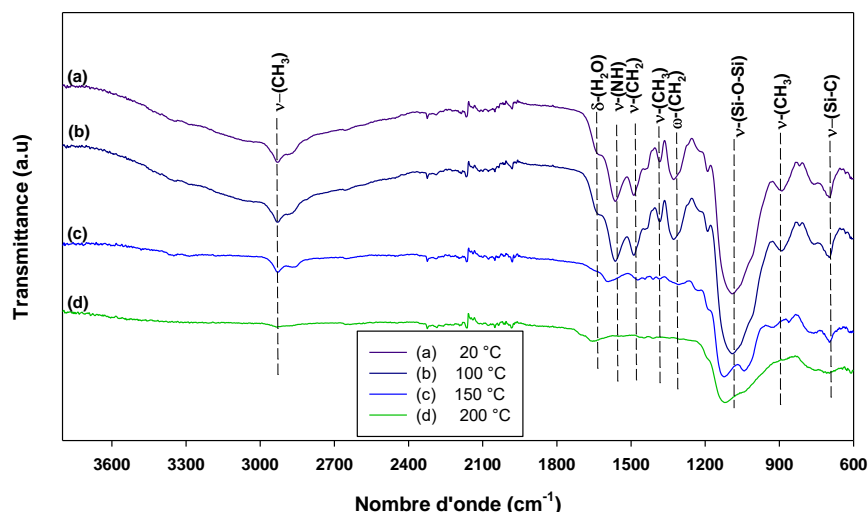


Figure 17 : spectre IRTF des échantillons d'aluminium traités au silane et réticulés à différentes température

On observe que l'augmentation de la température de réticulation s'accompagne de la diminution des intensités des bandes et pics d'absorption. A partir de 200 °C les bandes et pics d'absorption des groupes \square NH₂ et des chaînes hydrocarbonées disparaissent quasiment. Les diminutions d'intensité et la disparition à partir de 200 °C des pics et bandes peuvent être attribuées à deux processus : l'évaporation de la solution adsorbée sur le substrat qui emporte des fractions de plus en plus importantes, avec l'élévation de température, des molécules du soluté et la destruction par la chaleur des fonctions amines et des chaînes hydrocarbonées. Néanmoins, on observe toujours pour le substrat traité et cuit réticulé à 200 °C une large bande autour de 1120 cm⁻¹, caractéristique de la vibration d'élongation de Si-O-Si.

3.3. Analyses électrochimiques

3.3.1. Polarisation potentiodynamique

Les courbes de polarisation anodique des échantillons traités dans la solution de silane et cuits à différentes températures sont reportées sur la *figure 7*. La courbe de polarisation anodique d'un échantillon d'aluminium non traité est également représentée sur la même figure. Au cours de notre investigation, il s'est avéré que la réticulation du film de silane sur la surface du substrat d'aluminium est optimale pour des températures de cuisson comprises entre 100 et 160 °C.

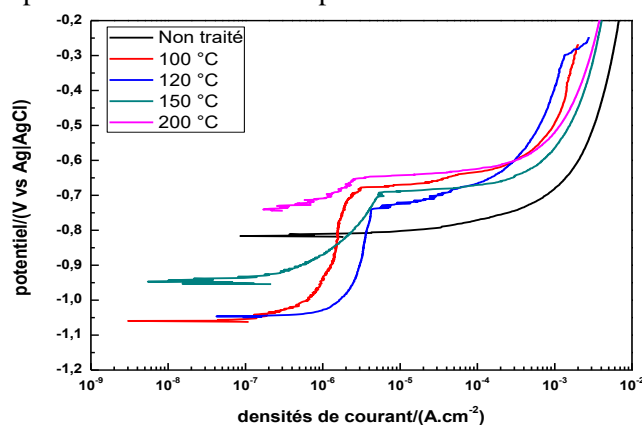


Figure 18 : courbe de polarisation, dans une solution de NaCl 0.5 M, des échantillons traités dans des solutions à 3% m/m de l'APTES

Les courbes de polarisation cathodique des échantillons traités et séchés entre 100°C et 150°C montrent un déplacement du potentiel d'abandon vers des valeurs plus nobles par rapport au potentiel d'abandon de l'échantillon non traité. Les courbes de polarisation anodique des échantillons traités au silane et recuit dans la gamme de température de 100 à 200 °C présentent des plateaux de passivation sur lesquels les densités de courant anodiques sont très faibles. Les points d'inflexion de ces courbes, marqué par une augmentation brusque des densités de courant anodiques correspondent aux potentiels de rupture de passivité. Les films de silane réticulés à 100 °C et 120 °C semblent présenter des domaines de passivité

dans des gammes plus large de potentiels qui sont respectivement de $-1,04$ V à $-0,74$ V et de $-1,06$ V à $-0,67$ V dans lesquels les densités de courant sont de l'ordre de 10^{-6} A.cm⁻² contre 10^{-3} A.cm⁻² pour l'échantillons non traité. Pour les températures de réticulation supérieure à 120 °C, le domaine de passivité se réduit. Ce résultat confirme l'observation déjà fait au niveau de l'analyse IRTF, à savoir que ces températures entraînent à la fois l'évaporation d'une fraction important du « sol » déposé sur le substrat et la destruction d'une fraction du film déposé.

3.3.2. Spectroscopie d'impédance électrochimique

Les diagrammes d'impédance de l'aluminium non traité et des échantillons d'aluminium traités au silane séchés à différentes sont présentés en mode Nyquist sur la **figure 8**. Le diagramme d'impédance de l'échantillon d'aluminium non traité présente une forme nettement différente de celles des échantillons traités au silane. Il comporte une boucle capacitive dans le domaine des hautes fréquences et portion relativement linéaire, correspondant à une impédance de Warburg, dans le domaine des basses fréquences [15]. L'impédance de Warburg caractérise un phénomène de diffusion d'espèces électroactives comme l'oxygène et les ions chlorures pendant la corrosion de l'aluminium nu. Pour les diagrammes des échantillons traités au silane, ceux dont le film est réticulé à 100 et 200 °C, les diagrammes sont constitués par une grande boucle capacitive déformée dont le diamètre correspond à la résistance de transfert de charge R_{ct} . Pour les échantillons dont le film est réticulé entre 120 et 150 °C, les diagrammes nous semblent être constitués chacun, de deux constantes de temps mal séparés : une boucle capacitive dans le domaine des hautes fréquences, dont l'exploitation permet d'estimer la résistance de transfert de charge R_{ct} et une boucle aux basses fréquences qui pourrait être attribuée à un phénomène de diffusion; l'hypothèse d'une diffusion à travers le film de silane étant possible. Afin de déterminer les paramètres électrochimiques relatifs aux mesures d'impédance, les substrats, nu et traités, en équilibre avec la solution agressive ont été modélisés à l'aide de circuits électriques équivalents (CEE). Le logiciel de modélisation de ces CEE est logiciel ZSimpWin 3.50. Le CEE correspondant à chaque système est représenté sur le digramme de Nyquist correspondant à chaque système (**figure 8**). Il s'agit de CEE de type $R(Q(R(Q(RW))))$ dans le cas du substrat non traité et de type $R(Q(R(QR)))$ dans les autres cas.

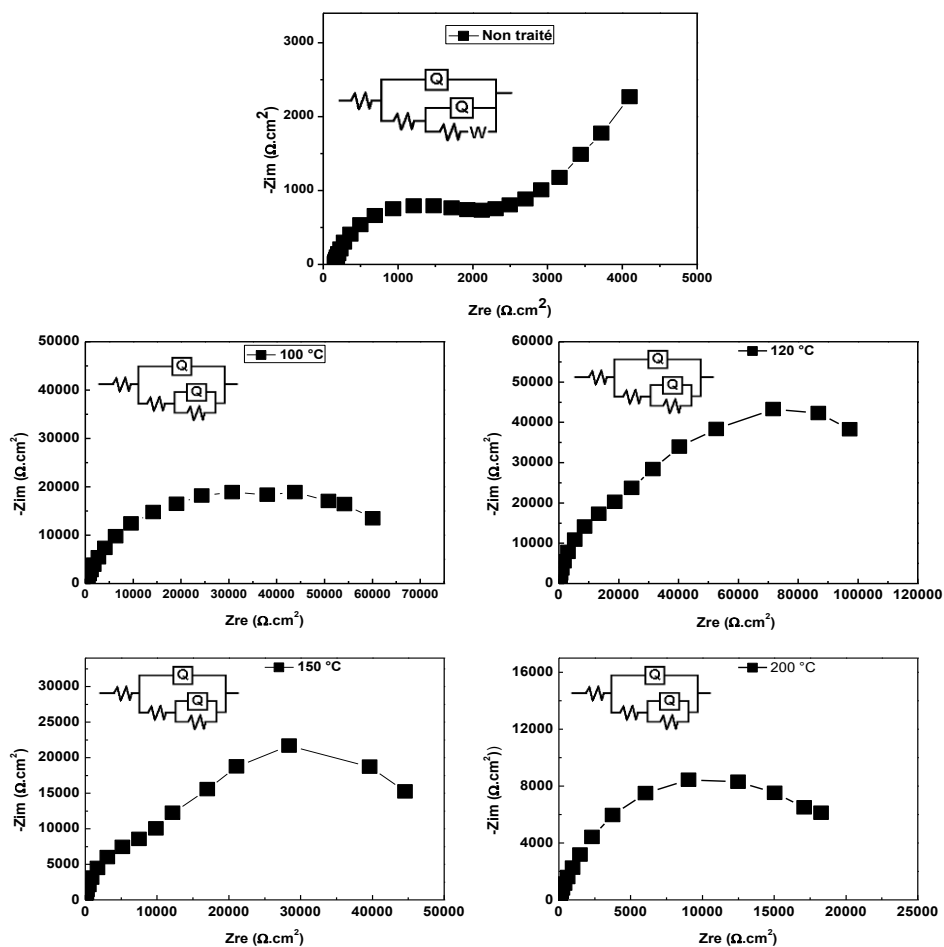


Figure 19 : Diagrammes d'impédance électrochimique obtenus au potentiel de corrosion pour 1 heure d'immersion

Les paramètres obtenus par la modélisation à l'aide de CEE sont résumés dans le **Tableau 1**. Dans les circuits, R_s est la résistance de la solution, R_c est la résistance du revêtement et R_{ct} est la résistance au transfert de charge. En raison de l'inhomogénéité de la surface de l'électrode, les caractéristiques de réponse en fréquence de la double couche sont incompatibles avec celles du condensateur pur. Pour obtenir un meilleur résultat de modélisation, on utilise dans le circuit équivalent un élément à phase constant à la place d'une capacité idéale. Q_c et Q_{dl} représentent respectivement la capacité de revêtement et la capacité de double couche. En raison de la différence diélectrique entre le film de silane et le substrat, il existe deux constantes de temps sur le schéma du circuit de montage, à savoir, R_c et Q_c sont parallèles, ce qui correspond à la propriété diélectrique du film de silane et la première constante de temps. Un autre sous-circuit parallèle, R_{ct} et Q_{dl} , désigne les propriétés diélectriques de l'interface revêtement-substrat, donnant une deuxième constante de temps. Pour l'échantillon d'aluminium non traité, en raison de la présence d'un film natif d'oxyde d'aluminium et du fait que le transfert de charge est affecté par le processus de diffusion semi-infinie, l'impédance de Warburg (W) apparaît dans le circuit équivalent. Des résultats du **Tableau 1**, on observe des valeurs plus élevées de R_{ct} pour les échantillons traités aux silanes. La plus grande valeur est obtenue avec l'échantillon traité et séché à 120 °C, où sa valeur vaut environ 100 fois celle de l'échantillon non traité.

Tableau 3 : Paramètres électrochimiques obtenu par modélisation de circuits électriques équivalents

Echantillon	R_s $\Omega.cm^2$	$Q_c \times 10^{-6}$ $S.cm^{-2}S^n$	n_c	R_c $\Omega.cm^2$	$Q_{dl} \times 10^{-6}$ $S.cm^{-2}S^n$	n_{dl}	R_{ct} $\Omega.cm^2$	$W \times 10^{-6}$ $S.cm^{-2}S^5$	$\chi^2 \times 10^{-4}$
Non Traité	157,3	6,3	0,86	1691	100	0,67	836,5	408,2	1,19
100 °C	171,3	11,5	0,85	18930	24,37	0,45	62100	–	1,98
120 °C	122,5	13,39	0,91	35580	12,65	0,80	94030	–	9,34
150 °C	177,2	30,87	0,96	13270	28,6	0,74	61430	–	4,70
200 °C	168,4	40,68	0,85	29820	12,89	0,53	40120	–	2,56

Plus la valeur de R_{ct} est grande, plus le processus de transfert de charge à l'interface entre le revêtement de l'organosilane et le substrat est difficile. Les résultats obtenus par la spectroscopie d'impédance électrochimique corroborent parfaitement ceux de la polarisation potentiodynamique. Les meilleures propriétés anticorrosion sont obtenues lorsque le film de silane déposé sur le substrat est réticulé entre 100 et 150°C.

4. Conclusion

Nous avons analysé la composition chimique et la microstructure d'un échantillon d'aluminium produit dans l'artisanat au Burkina Faso par recyclage de déchet d'aluminium. Ces analyses ont montré que l'aluminium recyclé local a une teneur en aluminium qui tourne autour de 80 à 90 % en élément Al. La microstructure du matériau recyclé montre qu'est vulnérable à la corrosion humide.

Un traitement de surface en vue d'améliorer sa résistance à la corrosion a été réalisé par voie sol-gel avec 3-aminopropyltriéthoxysilane comme précurseur à une concentration de 3% en masse. Des analyses IRTF ont permis d'établir qu'un film hybride organique/inorganique (o/i) se forme par condensation à la surface du substrat d'aluminium recyclé par un traitement dip-coating dans une solution du précurseur. La qualité du film est fortement tributaire de la température de séchage de l'échantillon prétraité. Aux faibles températures, la cinétique de condensation est extrêmement lente. Des températures de séchage trop élevées, vers 200 °C, conduisent à une évaporation importante du « sol » et une destruction du film hybride.

Les performances anticorrosives du film hybride o/i ont été évaluée par la polarisation potentiodynamique et la spectroscopie d'impédance électrochimique. Les résultats obtenus par ces deux techniques électrochimiques d'analyse de la corrosion ont montré que les propriétés protectives du revêtement sont optimales lorsque sa condensation s'est faite autour de 120 °C.

Références bibliographiques

- [1] Michel Romainville, *Les routes africaines de l'aluminium* ; Techniques & Culture 51, (2008) ; pp 74-97
- [2] R.A. Street, A. Mathee, S. Tanda, et al., Recycling of scrap metal into artisanal cookware in the informal sector: A public health threat from multi metal exposure in South Africa, *Science of the Total Environment* (2019), pp <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134324>
- [3] Emily Lynn Osborn; Casting aluminium cooking pots: labour, migration and artisan production in West Africa's informal sector, 1945–2005, *African Identities* 7 (2009); pp 373-386, DOI: [10.1080/14725840903031858](https://doi.org/10.1080/14725840903031858)
- [4] Weidenhamer, J.D., et al., Metal exposures from aluminum cookware: An unrecognized public health risk in developing countries, *Sci Total Environ* (2016), <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.11.023>
- [5] T. Ramdé, L. Bonou, B. Guel, J.B. Legma ; Comportement à la corrosion des alliages d'aluminium recyclés pour la confection de marmites ; *J. Soc. Ouest-Afr. Chim.* (2008) 026, pp 113-121.
- [6] T. Ramdé, B. Guel, L. Bonou, J. B. Legma ; Effet corrosif de quelques extraits et additifs alimentaires sur un alliage d'aluminium de recyclage artisanal. *Phys. Chem. News* 62 (2011) 111-121

- [7] Al Juhaiman, L.A., 2012. Estimating aluminum leaching from aluminum cookware in different vegetable extracts. *Int. J. Electrochem. Sci.* 7, 7283–7294.
- [8] Al Zubaidy, E.A., Mohammad, F., Bassioni, G., 2011. Effect of pH, salinity and temperature on aluminum cookware leaching during food preparation. *Int. J. Electrochem. Sci.* 6, 6424–6441.
- [9] Jeffrey D. Weidenhamer et al.; Lead exposure from aluminum cookware in Cameroon; *Science of the Total Environment* 496 (2014) 339–347, <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.07.016>
- [10] Karbouj, R., 2007. Aluminium leaching using chelating agents as compositions of food. *Food Chem. Toxicol.* 45 (2007), pp1688–1693.
- [11] Layla A. Al Juhaiman; Estimating Aluminum Leaching from Aluminum Cookware in Different Vegetable Extracts, *Int. J. Electrochem. Sci.*, Vol. 7 (2012), p 7285
- [12] R. Karbouj, I. Desloges, P. Nortier ; A simple pre-treatment of aluminium cookware to minimize aluminium transfer to food; *Food and Chemical Toxicology* 47 (2009) 571–577; doi:10.1016/j.fct.2008.12.028
- [13] Sarah H. Etude du comportement en oxydation de nouveaux revêtements en aluminium de Nickel dopé au Zirconium : application aux barrières thermiques, Université pierre et Marie Curie (2009) P. 98-110.
- [14] R.G Hamerton, H Cama, M.W Meredith, (2000); N.A Belov, A.A Aksenov, D.G Eskin, (2002)
- [15] Chen Xin, Tian Wenming, Li Songmei *, Yu Mei, Liu Jianhua; Effect of temperature on corrosion behavior of 3003 aluminum alloy in ethylene glycol–water solution; *Chinese journal of aeronautics*; Vol. 29 (2016), pp1142-1150; <https://doi.org/10.1016/j.cja.2015.12.017>

Synthèse et caractérisation des nanoparticules d'alumine gamma à partir de la bauxite locale du Burkina Faso

Ollé Rodrigue KAM¹, Corneille BAKOUAN¹, Inoussa ZONGO², Boubié GUEL¹

¹Laboratoire de Chimie Moléculaire et des Matériaux (LCMM)/Equipe Chimie Physique et Electrochimie, U.F.R –SEA/Université Joseph KI-ZERBO, 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina-Faso.

²Institut de Recherche en Sciences Appliquées et Technologies/Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique (IRSAT-CNRST), 03 BP 7047 Ouagadougou, Burkina-Faso.

Auteur correspondant: kamollrodrigue@yahoo.fr

Groupe thématique 1 : Chimie des matériaux naturels et de synthèse

Résumé

L'avènement de la nanotechnologie basée sur l'exploitation du potentiel des matériaux nanométriques a révolutionné le domaine de la science des matériaux. Le présent travail porte sur la préparation des nanoparticules d'alumine gamma (γ -Al₂O₃) à partir de la bauxite locale du Burkina Faso. Le minerai réduit à une granulométrie inférieure à 75 μ m a été lixivié avec une solution alcaline pour donner une solution d'aluminate de sodium. Après lixiviation, la solution d'aluminate de sodium a été traitée avec une solution d'acide chlorhydrique pour obtenir de l'hydroxyde d'aluminium qui a été calciné et broyé pour obtenir la poudre de nano-alumine (phase gamma). La poudre résultante a été caractérisée par différentes techniques à savoir la diffraction des rayons X pour confirmer la phase gamma ainsi que l'estimation de la taille des cristallites, la méthode BET pour évaluer les propriétés texturales, la spectroscopie infra-rouge à transformée de Fourier (IRTF) pour étudier les différentes liaisons se trouvant dans le matériau et l'ICP pour déterminer la composition chimique. Les résultats des caractérisations ont clarifié la possibilité de produire les nanoparticules d'alumine gamma avec une grande surface spécifique en utilisant cette méthode et en utilisant comme matériaux de départ la bauxite brute.

Mots clés : nanotechnologie ; alumine ; lixiviation

Abstract

The advent of nanotechnology based on exploiting the potential of nanoscale materials has revolutionized the field of materials science. This work focuses on the preparation of gamma alumina (γ -Al₂O₃) nanoparticles from local bauxite in Burkina Faso. The ore reduced to a particle size of less than 75 μ m was leached with an alkaline solution to give a sodium aluminate solution. After leaching, the sodium aluminate solution was treated with hydrochloric acid solution to obtain aluminum hydroxide which was calcined and ground to obtain the nano-alumina powder (gamma phase). The resulting powder was characterized by different techniques, namely X-ray diffraction to confirm the gamma phase as well as the estimation of the size of the crystallites, the BET method to evaluate the textural properties, Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIS) to study the different bonds found in the material and the ICP to determine the chemical composition. The results of the characterizations clarified the possibility of producing gamma alumina nanoparticles with a large specific surface area using this method and using raw bauxite as starting materials.

Keywords: nanotechnology, alumina, leaching

1. Introduction

La forme γ des nanoparticules d'alumine est l'une des formes d'alumine les plus largement utilisées dans les applications en catalyse et en adsorption, en raison de sa grande surface spécifique et de ses bons paramètres de porosité [1, 2]. Ces dernières années, en raison des applications variées des γ -Al₂O₃, une attention particulière a été portée sur la préparation de poudres de γ -Al₂O₃ de haute pureté par diverses voies telles que la précipitation [3], l'ablation au laser [4], le procédé sol-gel [5, 6], la méthode hydrothermale [7; 8], la micro-émulsion [9] et les méthodes de combustion [10]. Chacune des méthodes a ses limites telles que la procédure de synthèse complexe, le coût élevé des matières premières, l'utilisation de précurseurs toxiques, l'exigence de l'apport élevé d'énergie, la non viabilité pour la production à grande échelle et le faible rendement de synthèse. Afin de surmonter ces limitations, le procédé sol-gel, une technique simple, rentable et respectueuse de l'environnement a été adoptée pour

la synthèse de nanoparticules d'alumine gamma. Le procédé sol-gel présente de nombreux avantages pour les poudres synthétisées résultantes tels que l'obtention d'une phase de grande pureté, l'obtention d'une bonne homogénéité dans la composition et d'une activité de surface élevée [11, 12].

Ainsi, de nombreux matériaux ont été utilisés pour produire des nanoparticules d'alumine dans toutes les phases, en particulier la phase gamma. Ces matériaux incluent la boehmite et l'alcoxyde d'aluminium qui sont classés comme des matériaux coûteux. Ainsi, les efforts de recherche sont orientés vers les matériaux moins onéreux pour réduire le coût de production. En raison de la teneur considérable en alumine dans sa structure, la bauxite est un matériau approprié pour la production des nanoparticules d'alumine. Au Burkina Faso, les bauxites existent bien à l'état naturel mais sont très peu utilisées. L'abondance, la disponibilité et l'accessibilité des gisements de bauxite au Burkina Faso ont conduit à leur utilisation comme matière première dans cette étude.

Par la suite, quelques propriétés minéralogiques, chimiques et microstructurales des nanoparticules synthétisées seront déterminées. Ces propriétés seront déterminées en utilisant plusieurs techniques incluant la diffraction des rayons X (DRX), la spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (IR-TF), l'analyse chimique élémentaire, la microscopie électronique à balayage couplée à l'analyse EDX (MEB-EDX), la méthode BET et la microscopie à force atomique (MFA).

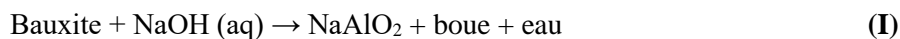
2. Matériel et méthodes

2.1 Matériel

La bauxite naturelle locale, nommée BA, utilisée pour la synthèse des nanoparticules d'alumine gamma (γ ANPs), a été collectée dans le village de Foulou situé dans la région du Centre-Nord du Burkina Faso dont les coordonnées sont les suivantes : 13°13'03,5" N et 01°32'05,6" O. L'acide chlorhydrique (HCl, 37 % extra pur, Loba Chemie, Ahmedabad, Inde), L'hydroxyde de sodium ($\geq 99\%$, Sigma-Aldrich), l'éthanol (99,8 %, Fluka, Darmstadt, Allemagne) et le tensioactif N-cétyl-N, N, N, bromure de triméthylammonium (CTAB) ($\geq 99\%$, Sigma-Aldrich) ont été utilisés pour la synthèse. Le nitrate d'argent ($\geq 99,8\%$, Sigma-Aldrich) a été utilisé pour tester les ions bromure lors du lavage du produit synthétisé. L'eau Milli-Q utilisée pour toutes les expériences a été produite par le système de purification d'eau Milli-Q (Millipore Corporation, New York, NY, USA).

2.2 Méthodes

Les nanoparticules d'alumine gamma (γ ANPs) ont été synthétisées à partir de la bauxite locale en utilisant le procédé sol-gel selon Dani Gustaman Syarif et *al.*, 2015 et P. Manivasakan et *al.*, 2009 [13,14]. Les matériaux de bauxite ont d'abord été séchés, concassés, broyés et tamisés. Les passants d'un tamis d'une taille de maille de 75 μ m ont été sélectionnés pour la synthèse des γ ANPs. Un mélange bien sec contenant 60% de bauxite brute et 40% d'hydroxyde de sodium en masse est mis en réaction avec 250 mL d'eau Milli-Q et vigoureusement agité à 800 rpm pendant 2 h, l'idée étant d'avoir un pH dans la gamme de 13-14 où seuls les oxydes d'aluminium seront dissous et les oxydes de fer, de titane et oxydes d'autres éléments seront déposés sous forme de boues. Ainsi, la solution agitée est centrifugée et le surnageant est recueilli et centrifugé à plusieurs reprises pour avoir une solution assez limpide. Ce filtrat est utilisé comme précurseur pour la synthèse des nanoparticules d'alumine gamma. La **réaction I** présente la réaction susceptible de se produire entre la soude et la bauxite :



Le filtrat obtenu est d'abord ramené à température ambiante puis s'en suit une addition goutte à goutte d'une solution de N-cétyl-N, N, N, bromure de triméthylammonium (CTAB) de concentration 1 mM dans le filtrat sous agitation. Le CTAB a pour rôle de minimiser la formation des agglomérations. L'acide chlorhydrique est ensuite ajouté au filtrat pour initier la floculation. L'efficacité de la floculation a été observée dans la gamme de pH comprise entre 6,5 et 9. Le gel obtenu est filtré et lavé à plusieurs reprises avec l'eau Milli-Q, puis avec l'éthanol pour éliminer les impuretés. Il est ensuite chauffé à 200°C pendant 10h dans une étuve pour obtenir la boehmite. La boehmite est calcinée à 900°C pendant 4h dans un four à moufle puis broyée pour obtenir la poudre de nanoparticules d'alumine. La taille et la morphologie des particules étaient contrôlées par le pH de la réaction et la température de calcination.

3 Résultats et discussion

3.1 Caractérisation minéralogique

3.1.1 Diffraction des rayons X

Les diffractogrammes des échantillons avant et après calcination à 900 °C sont illustrés à la **figure 1**. On peut noter que la phase principale trouvée dans les échantillons non calcinés était la boehmite (JCPDS 21-1307), qui est transformée en γ -alumine (Carte JCPDS 29-0063) après calcination. Nous pouvons observer trois pics aigus avec une intensité élevée à des valeurs 2θ respectives de 37,8 ; 45,7° et 66,9°. Ces pics indiquent que les γ -alumine ont été synthétisées avec une cristallinité élevée [15,16]. La taille des cristallites a également été calculée à l'aide de l'équation de Scherrer Debye (**relation II**) :

$$D = \frac{K\lambda}{\beta \cos\theta} \quad (\text{II})$$

où K est une constante généralement prise égale à $\sim 0,9$, λ est la longueur d'onde du rayonnement incident, β est la pleine largeur du pic de diffraction à la moitié de l'intensité maximale (FWHM), et θ est l'angle de diffraction [17]. La taille des cristallites calculée s'est avérée être de l'ordre de 4,1 nm pour l'alumine γ synthétisée.

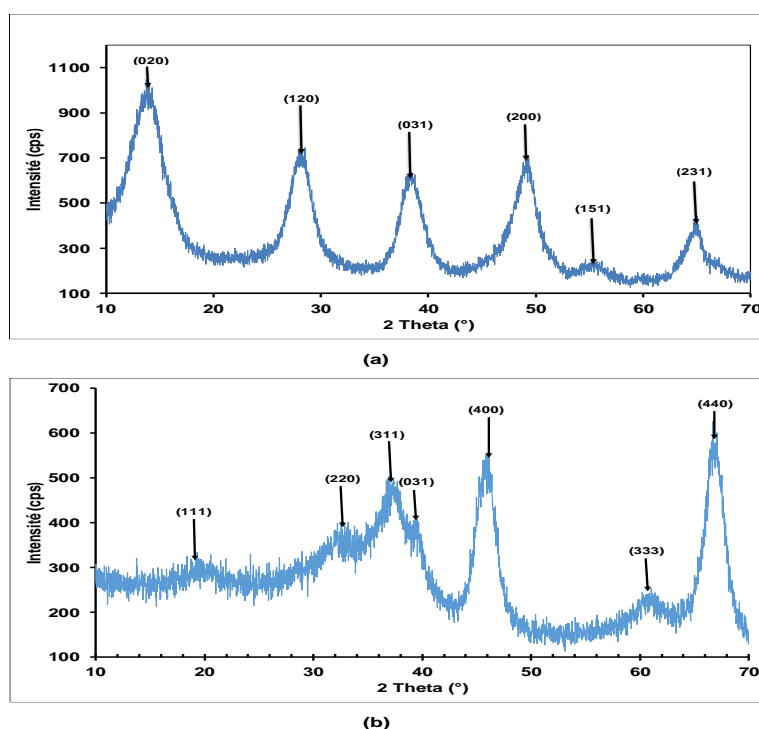


Figure 1 : diffraction aux rayons X : (a) la boehmite et (b) la nano-alumine gamma.

3.1.2 Infrarouge

La formation de la phase gamma de l'alumine a ensuite été confirmée par le spectre FTIR (**Figure 2**). Le spectre IR-TF des $\gamma\text{Al}_2\text{O}_3$ synthétisés montre une large bande à 3457 cm^{-1} attribuée à la bande d'étirement des groupements hydroxyles à la surface de l'alumine. De plus, une bande faible à 1641 cm^{-1} est associée à la bande de vibration d'élongation de la liaison Al-OH, et une bande de vibration d'élongation symétrique Al-O-Al vue à 520 cm^{-1} correspondant à la vibration caractéristique de Al_2O_3 . Les mêmes observations ont été obtenues pour l'alumine dans d'autres études [18,19]. Le CTAB a pour rôle non seulement de minimiser la formation des agglomérations mais aussi d'améliorer l'homogénéité et les propriétés de surface lors de l'étape de la formation du gel. Après la calcination à 900°C , le CTAB ne doit plus exister dans le produit synthétisé. L'absence de bande autour de 1371 cm^{-1} due à C-H du CTAB suggère que l'alumine était sans surfactant (CTAB) après calcination [20].

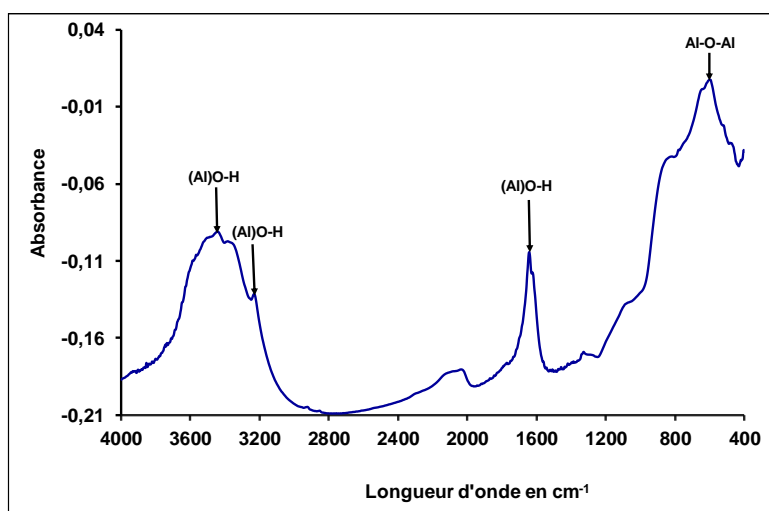


Figure 2 : spectre FT-IR des nanoparticules d'alumine gamma.

3.2 Analyse chimique élémentaire

Le **tableau I** présente la composition chimique des nanoparticules d'alumine gamma synthétisées. Les valeurs sorties de l'ICP sont additionnées pour obtenir la composition chimique totale. Les résultats montrent que les compositions chimiques prédominantes de l'alumine synthétisée comprennent l'oxyde d'aluminium, l'oxyde de silicium et d'autres oxydes présents à l'état de traces. Les résultats obtenus sont en accord avec ceux publiés dans la littérature [21,22].

Table I : composition chimique des nanoparticules d'alumine synthétisées

Oxydes	Al ₂ O ₃	SiO ₂	Fe ₂ O ₃	P ₂ O ₅	V ₂ O ₅	Na ₂ O	MgO	K ₂ O	ZnO	Total
%.	88,000	5,101	0,100	0,170	0,020	0,090	0,020	0,010	0,005	93,516

3.3 Mesure de la surface spécifique (SS) par la méthode B.E.T

La **figure 3** montre que la forme générale de l'isotherme se rapproche d'un isotherme de type IV avec la présence d'une hystérèse de type H2(a) ou H3. Ce type de représentation est généralement donné par des effets de réseaux méso à macroporeux ; ce qui a suggéré que le matériau synthétisé comprend des mésopores [23]. La surface spécifique a été estimée à partir de l'équation de Brunauer-Emmett-Teller (BET) et était de 187 m²/g. En général, les matériaux dont la surface spécifique est supérieure à 125 m²/g [24, 25], indique une forte stabilité de ces matériaux d'un point de vu thermodynamique. La valeur de la surface spécifique des nanoparticules d'alumine gamma déterminée dans cette étude étant 187 m²/g suggère que ces nanoparticules d'alumine gamma sont très stables d'un point de vu thermodynamique. La taille des pores a également été déterminée par l'analyse des courbes de distribution BJH. Nous notons (**figure 3.**) que la quasi-totalité des pores se trouvent dans la gamme mésoporeuse (diamètres de 2 à 50 nm). Le diamètre moyen des pores et le volume des pores du matériau ont été estimés à 9,8 nm et 0,58 cm³/g respectivement. La grande surface spécifique (187 m²/g) et la distribution de tailles de pores en plus d'une excellente stabilité thermique font de ces nano-alumines synthétisées des candidats potentiels pour le traitement des eaux contaminées en polluants organique et inorganique.

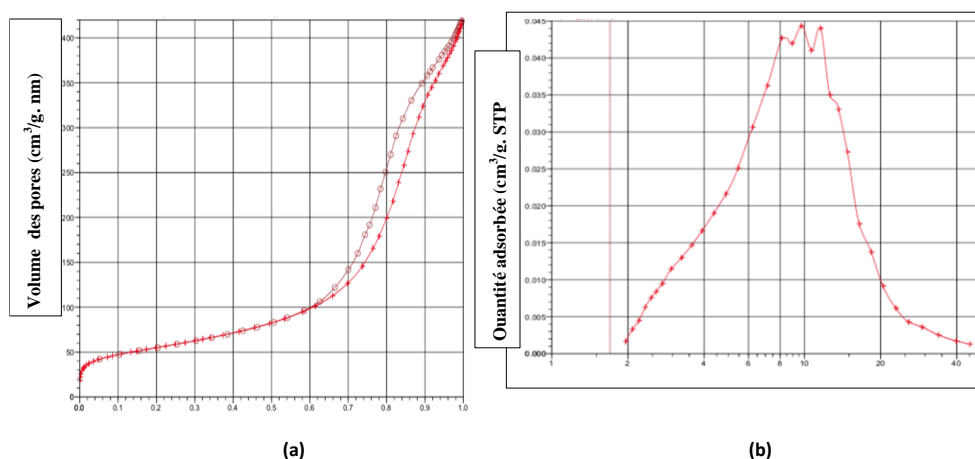


Figure 3 : (a) isotherme d'adsorption/désorption d'azote et (b) distribution en taille des méso-pores.

3.3.4 pH au point de charge nulle

Le pH de charge au point zéro (pH_{PCN}) des nanoparticules d'alumine synthétisées a été déterminé à partir du point d'intersection de la courbe $pH_{initial}$ vs. pH_{final} . Le pH_{PCN} indique la neutralité électrique de l'adsorbant à certaines valeurs de pH lorsque la concentration des groupes de surface chargés positivement est la même que celle des groupes chargés négativement. Le pH_{PCN} des nanoparticules d'alumine s'est avéré être huit (figure 4), ce qui est proche de celui rapporté par Li et *al.*, [26]. Le pH_{PCN} pour la γ -alumine obtenue est en accord avec d'autres études dans lesquelles le pH_{PCN} était de 7,9 [27] et 8,0 [28]. Ainsi, à des valeurs de pH inférieures à huit, la surface des nanoparticules d'alumine est chargée positivement et à des valeurs supérieures à pH 8, elle est chargée négativement.

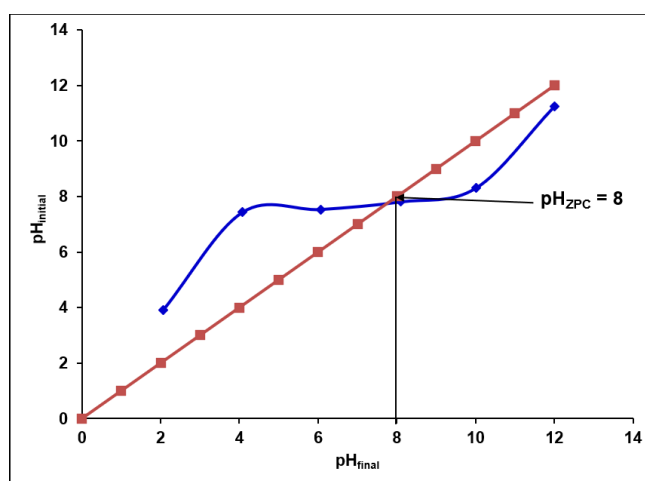


Figure 4 : pH au point de charge nulle des nanoparticules d'alumine synthétisées.

3.4 Caractérisation microstructurale

La microscopie électronique à balayage a été utilisée afin d'obtenir des informations sur la morphologie générale de la poudre produite. Les cristaux dans l'échantillon se présentent sous forme poreuse et spongieuse, et la morphologie cristalline présentait des pores réguliers et un volume suffisant pour les réactions de surface [20] (figure 5a). Le spectre EDX de la figure 5b montre clairement le pic Al et O comme constituants majeurs, ce qui confirme la formation des nanoparticules d'alumine. Les figures 6a et 6b présentent la morphologie de surface obtenue par la microscopie à force atomique (MFA) des échantillons préparés. La figure 6a représente une image topographique montrant trois nanoparticules d'alumine. La figure 6b a indiqué que les particules ont une forme presque sphérique. La taille moyenne des particules de la nano-alumine préparées était dans l'échelle des nanoparticules.

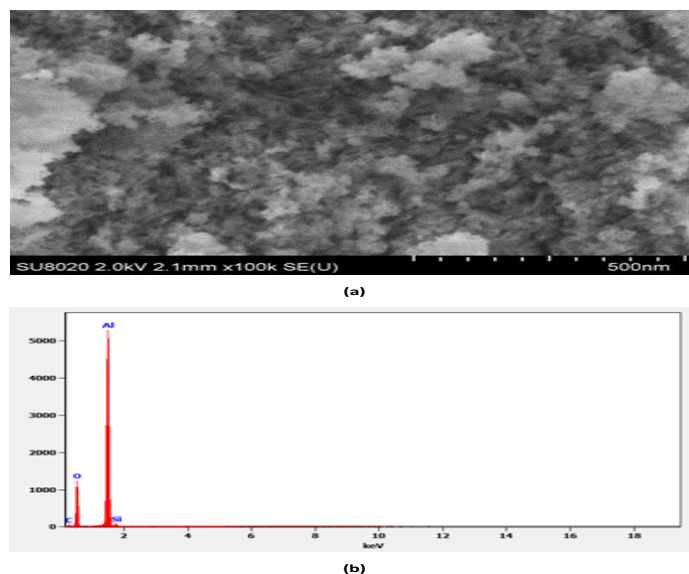


Figure 5: (a) Image MEB et (b) spectre EDX

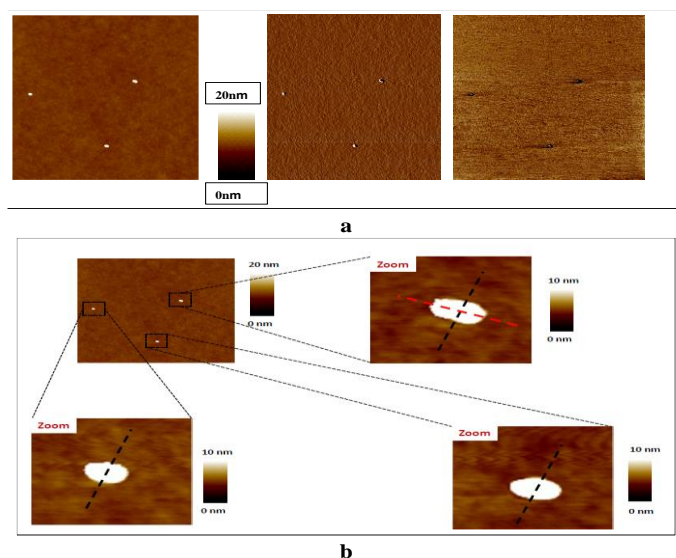


Figure 6 : images MFA : (a) image topographique montrant trois nanoparticules d'alumine ; (b) forme de particules de nano-alumine synthétisée.

4 Conclusion

Les nanoparticules d'alumine ont été synthétisées en utilisant une nouvelle voie écologique à partir des minerais de bauxite du Burkina Faso. La synthèse de poudre d'alumine à partir de la bauxite naturelle présente un grand intérêt du fait qu'elle permet une production de masse sans utilisation de ressources chimiques coûteuses et de traitement techniques. En utilisant la soude, la solution d'aluminate a été extraite de la bauxite puis la synthèse des nanoparticules d'alumine a été faite par voie sol-gel. Le procédé sol-gel à base de solvant d'eau était utilisé dans la synthèse des nanoparticules d'alumine gamma. L'extraction de l'alumine sous forme d'hydroxyde d'aluminium à partir de la solution limpide contenue dans le filtrat a été réalisée avec succès tandis que la boue rouge sous forme de résidu était séparée. La poudre d'alumine ultra fine avec une grande surface spécifique ($187 \text{ m}^2/\text{g}$) est obtenue. La taille de la particule et sa morphologie étaient contrôlées par le pH de formation du gel et la température de calcination de ce gel. En outre l'ajout du CTAB a contribué à améliorer les propriétés texturales des nanoparticules d'alumine. Les résultats obtenus indiquent que le procédé de synthèse utilisé est bien indiqué pour la préparation de la poudre des nanoparticules d'alumine gamma à partir de ressources

naturelles telle que la bauxite. Pour la caractérisation des propriétés structurales des nanoparticules d'alumine synthétisées, les principales techniques utilisées incluent la diffraction des rayons X, la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier et la microscopie électronique à balayage.

5. Références bibliographiques

- [1] Sifontes A.B., Urbina M., Fajardo F., Melo L., García L., Mediavilla M., Carrión N., Brito J. L., Hernández P., Solano R., Mejias G., Quintero A. Preparation of γ -Alumina foams of High Surface Area Employing the Polyurethane Sponge Replica Method. *Journal of Latin American Applied Research*. 40 (2010) 185-191.
- [2] Hosseini S.A., Niaei A., Salari D. Production of γ -Al₂O₃ from Kaolin. *Open Journal of Physical Chemistry* 1 (2011) 23-27.
- [3] Parida K. M., Pradhan A. C., Das J., Sahu N. Synthesis and characterization of nano-sized porous gamma-alumina by control precipitation method. *Mater. Chem. Phys.* 113 (2009) 244-248.
- [4] Ismail R.A., Zaidan S. A., Kadhim R. M. Preparation and characterization of aluminium oxide nanoparticles by laser ablation in liquid as passivating and anti-reflection coating for silicon photodiodes. *Appl. Nanosci.* 7 (2017) 477-487.
- [5] Dubey S., Singh A., Nim B., Singh I. B. Optimization of molar concentration of AlCl₃ salt in the sol-gel synthesis of nanoparticles of gamma alumina and their application in the removal of fluoride of water. *J. Sol-Gel Sci. Technol.* 82 (2017) 468-477.
- [6] Rogoian R., Andronescu E., Ghițulică C., Vasile B. Ș. Synthesis and Characterization of Alumina Nano-Powder Obtained by Sol-Gel Method. *Sci. Bull. Series B.* 73 (2011) 67-76.
- [7] Mohammed A.-H. A.K., Hussein H. Q., Mohammed M. S. The Effect of Temperature on the Synthesis of Nano-Gamma Alumina Using Hydrothermal Method. *Iq. J. Chem. Petro. Eng.* 18 (2017) 16.
- [8] Lu C.L., Lv J.G., Xu L., Guo X.F., Hou W.H., Hu Y., Huang H. Crystalline nanotubes of γ -AlOOH and γ -Al₂O₃: hydrothermal synthesis, formation mechanism and catalytic performance. *Nanotechnology* 20, 21 (2009).
- [9] Piao L.Y., Liu X.Z., Mao L.J., Ju S.T. Preparation of Nano-Alumina by Reverse Microemulsion Method. *Acta Physico-Chimica Sinica.* 25 (2009) 2232-2236.
- [10] Sherikar N. B., Umarji A. M. Synthesis of γ -Alumina by Solution Combustion Method Using Mixed Fuel Approach (Urea+Glycine Fuel). IC-RICE Conference, Gulbarga, India, 2013.

Complexes de coordination de Fer(II) poly bipyridine pour batterie au lithium : Impact de la nature de l'électrolyte sur le matériau actif de la cathode.

Adama SY*^{1,2}, Dame Gadiaga^{1,2}, Fahim HAMIDOUCHE³, Lauréline LECARME⁴, Jean Claude LEPRETRE⁴

¹ LSAO – MED, Univ. Gaston Berger de Saint - Louis, Sénégal

² LCCO, Univ. Cheikh Anta Diop Dakar, Sénégal

³ LTMFP, Univ. M'hamed BOUGARA, UMBB - Boumerdès – Algérie

⁴ LEPMI, Univ. Grenoble Alpes - CNRS UMR 5250, F-38000 Grenoble, France

*adama.sy@ugb.edu.sn

Résumé :

Les complexes de coordination sont rarement étudiés dans le contexte batterie redox bien qu'ils présentent de nombreux avantages. Malgré leur masse moléculaire relativement élevée, la valeur du potentiel E° et la cinétique de transfert de l'électron peuvent être modulées selon la nature du centre métallique pour obtenir un matériau performant compatible avec l'électrolyte. Dans ce contexte, nous avons proposé d'étudier les complexes Fe(II) poly bipyridine en vue de vérifier l'impact de la nature de l'électrolyte sur la réponse électrochimique en contexte de batterie. Pour comprendre ces changements, trois sels de lithium ont été étudiés : LiClO_4 , LiPF_6 et LiTFSI (TFSI = bistrifluoromethanesulfonimide). Afin de mimer ces impacts, des études électrochimiques ont été effectuées sur des complexes monomères (mono et binucléaires). Enfin, les complexes polymères sont utilisés comme matériau pour les batteries au lithium malgré leur faible capacité massique

Mots Clés : batterie au lithium, complexes de coordination, Electrolyte.

Iron poly-bipyridine coordination complexes for Li – ion batteries applications: impact of the nature of the electrolyte of the active material of the cathode.

Abstract:

Although they exhibit a high versatility, coordination complexes have been rarely investigated in the field of cathode material for battery. Despite their relative high molecular mass, according to the nature of the metallic center and the one of the ligand, the E° value and the electron transfer kinetics can be adjusted to reach performant material compatible with the electrolyte. Here we proposed to investigate Fe(II) poly – bipyridine complexes in view to check the impact of the nature of the electrolyte as well as the influence of the distance between two redox centers when polymerized, on the electrochemical response in battery condition. To understand these changes, three lithium salts have been studied: LiClO_4 , LiPF_6 and LiTFSI (TFSI = bistrifluoromethanesulfonimide). In order to mimic these impacts, monomer complexes (mono et binuclear) have been electrochemically studied. Finally, despite their expected low mass capacity, these polymeric coordination complexes have been involved in battery conditions

Keywords: Lithium battery, coordination complexes, electrolyte.

1. Introduction

Le développement de nouveaux matériaux pour batterie au lithium présente un grand intérêt du fait que les batteries dominent l'électronique portable et que ces dispositifs doivent être intégrés dans des systèmes très énergivores (batterie de véhicules électriques). Les batteries au lithium utilisent généralement des matériaux à base d'oxydes inorganiques comme cathode [1]. De nombreux matériaux impliquant différents types d'oxydes mélangés ou non ont été explorés. Ces composés sont choisis en fonction de leur faible masse moléculaire, de leur potentiel de fonctionnement relativement élevé et de leur capacité à capter et restituer les ions lithium.

Parallèlement, les complexes de coordination bien qu'ils soient cités dans le contexte batterie redox [2], sont très peu étudiés comme matériaux d'électrode positive alors qu'ils présentent de nombreux avantages :

- Un potentiel de fonctionnement facilement modulable par une modification des ligands ou du métal ;
- Une stabilité chimique vis-à-vis du cation de l'électrolyte.

Dans ce contexte, nous avons étudié les complexes de type fer – (tris-bipyridine) (par exemple, $\text{Fe}(\text{bpy})_3^{2+}$ comme matériau de cathode pour les batteries au lithium, bien que la capacité massique attendue soit plutôt faible.

2. Matériel et méthodes

2.1. Synthèse des complexes

Les complexes $\text{Fe}(\text{DmbPy})_3(\text{ClO}_4)_2$, $[\text{Fe}_{2n}(\text{BisbPy})_{3n}](\text{ClO}_4)_{6n}$ et $[\text{Fe}_2(\text{BisbPy})_3](\text{ClO}_4)_6$ ont été synthétisés dans un milieu CH_3CN sous reflux, en mélangeant $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_2$ et le ligand (DmbPy ou BisbPy) dans un rapport métal - ligand 1 : 3.

Les réactifs chimiques $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_2$, 4,4'-Diméthyl-2,2'-dipyridyl (DmbPy), 1,2-bis(4'-méthyl-[2,2'-bipyridin]-4-yl)éthane (BisbPy), LiClO_4 , LiPF_6 et LiTFSi ont été utilisés sans autre purification.

2.1.1. Synthèse du complexe $[\text{Fe}(\text{DmbPy})_3](\text{ClO}_4)_2$

Après reflux pendant deux heures, le complexe est isolé en ajoutant un excès d'éther diéthylique conduisant à la précipitation du produit rouge foncé attendu. Après lavage à l'éther diéthylique et séchage sous vide, la pureté de $[\text{Fe}(\text{DmbPy})_3](\text{ClO}_4)_2$ est vérifiée par RMN ^1H .

2.1.2. Synthèse du complexe $[\text{Fe}_{2n}(\text{BisbPy})_{3n}](\text{ClO}_4)_{6n}$ et $[\text{Fe}_2(\text{BisbPy})_3](\text{ClO}_4)_6$

En mélangeant $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_2$ et BisbPy, la précipitation du matériau polymère est observée, tandis que la solution présente une couleur rouge résiduelle attestant que certains "oligomères" sont également produits.

Le précipité est isolé par filtration et lavé avec différents solvants afin d'éliminer l'oligomère et le matériau de départ (c'est-à-dire méthanol, CH_3CN , éther diéthylique et carbonate de diméthyle), la purification de $[\text{Fe}_{2n}(\text{BisbPy})_{3n}](\text{ClO}_4)_{6n}$ est réalisée une fois que la solution de lavage n'est pas colorée (rendement 85%). La solution rouge obtenue après la première filtration est purifiée par chromatographie sur gel de silice. La première fraction a permis d'éliminer la quantité résiduelle de BisbPy restant, tandis que la seconde fraction contient le complexe binucléaire désiré (rendement 2%). La pureté de $[\text{Fe}_2(\text{BisbPy})_3](\text{ClO}_4)_4$ est vérifiée par RMN ^1H et spectroscopie de masse.

2.1.3. Mesures électrochimiques

Les courbes de voltampérométrie cyclique (CV) et de voltampérométrie à électrode à disque rotatif (RDE) ont été enregistrées avec un potentiostat Biologic SP-300. Les expériences ont été réalisées dans une cellule standard à trois électrodes sous argon. Dans une mesure typique, la concentration du complexe était d'environ 2 mM dans une solution CH_3CN contenant 0,1 M de sels de lithium (LiClO_4 , LiPF_6 et LiTFSi) comme électrolyte de support. Une électrode à disque en carbone vitreux (3 mm de diamètre), a été utilisée comme électrode de travail. L'électrode auxiliaire était un fil de platine, tandis que 0,01 M Ag/AgNO_3 dans CH_3CN + 0,1 M de tétrabutyl ammonium perchlorate (TBAP) était utilisé comme électrode de référence. Les potentiels peuvent être convertis en échelle Li/Li^+ en ajoutant 3,58 V ou en électrode de référence NHE en ajoutant 540 mV [3,4].

Des essais dans l'électrolyte LP30 (1M LiPF_6 EC/DMC (1/1)) ont été réalisés en utilisant le Li métal comme électrode de référence et contre-électrode et la microélectrode à cavité en carbone vitreux comme électrode de travail.

Les boues d'électrodes ont été préparées avec la formulation suivante : 65 % en poids de matière active, 20 % en poids de noir de carbone (super C65), 10 % en poids de polyfluorure de vinylidène (PVDF) et 5 % en poids de fibres de carbone broyées par la vapeur (VGCF) dans un solvant N-méthyl pyrrolidinone (NMP). Le lithium métal a été utilisé comme contre-électrode et le LP30 comme électrolyte. Le test galvanostatique a été réalisé en cyclant avec un courant constant correspondant à un C/5, C/2 et C. Les tests électrochimiques ont été réalisés à 22°C et la fenêtre de tension était de 3,6 V à 4,1 V.

3. Résultats et discussion

Le comportement électrochimique des complexes a été réalisé dans CH₃CN avec différents types de sels LiClO₄, LiPF₆ et LiTFSI (TFSI = bistrifluorométhane sulfonimide) afin de déterminer l'influence de l'anion sur le comportement électrochimique du système redox Fe^{II}/Fe^{III}. Les potentiels ont été mesurés en utilisant une électrode de référence Ag/AgNO₃ 10 mmol dans CH₃CN + 0.1 mol.L⁻¹ perchlorate de tétrabutyl ammonium (TBAP). Les potentiels peuvent être convertis à l'échelle NHE en ajoutant 0,548 V et à l'échelle Li⁺/Li en ajoutant 3,578 V. Le comportement électrochimique a été étudié par voltampérométrie cyclique (CV) à différentes vitesses de balayage et par voltampérométrie à électrode à disque rotatif (RDE). La différence de potentiel ΔE_p mesurée par voltamétrie cyclique (ΔE_p = E_{pa} - E_{pc} où E_{pa} et E_{pc} correspondent respectivement aux pics de potentiel anodique et cathodique) et le courant limite I_{lim} (mesuré par RDE), permet de calculer la cinétique de transfert des électrons grâce à l'équation de Nicholson :

$$\psi = \frac{\gamma^\alpha k^\circ}{\sqrt{\pi a D_0}} ; \gamma = \left(\frac{D_0}{D_R}\right)^{1/2} ; \alpha = \frac{nF}{RT} v$$

Selon Dragu et coll., nous choisissons d'utiliser une équation plus adaptée [5].

$$\Delta E_{Peak} = f(\psi) = A_2 + \frac{A_1 - A_2}{1 + \left(\frac{\psi}{x_0}\right)^p} \quad \text{Où}$$

$$A_1 = 432.91 \text{ mV}, A_2 = 59.55 \text{ mV}, x_0 = 0.0688 \text{ et } p = 0.9938 \quad \text{et}$$

$\psi = x_0 \left(\frac{A_1 + A_2}{\Delta E_{Peak} - A_2} - 1\right)^{\frac{1}{p}}$, $k^\circ = \frac{\psi \sqrt{\pi a D_0}}{\gamma^\alpha}$ Où D₀ correspond au coefficient de diffusion du complexe étudié qui a été déterminé par l'équation de Levitch [6] :

$i_L = 0,620 \cdot n \cdot F \cdot A \cdot D^{2/3} \cdot \omega^{1/2} \cdot \nu^{-1/6} \cdot C$ ω étant la vitesse de rotation de l'électrode (rad.s⁻¹), et ν la viscosité cinématique de l'électrolyte (cm².s⁻¹).

3.1. Comportement électrochimique du complexe Fe^{II}(DmBpy)₃²⁺

La **figure 1** montre les courbes de voltamétrie cyclique et la voltampérométrie sur RDE du complexe Fe^{II}(DmBpy)₃²⁺.

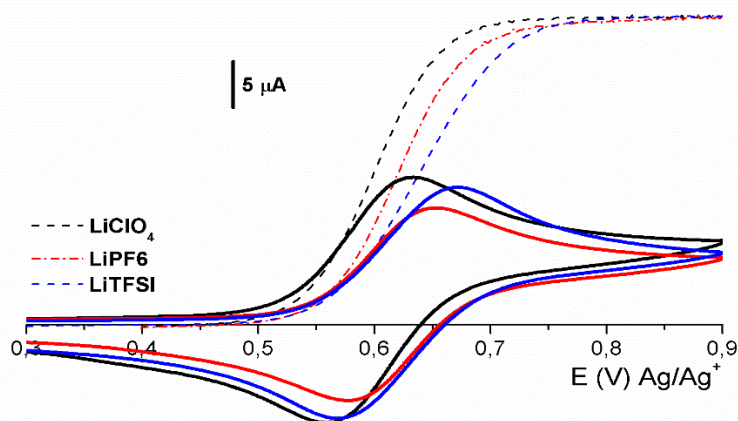


Figure 1 : Voltamétrie cyclique à 100 mV.s⁻¹ (ligne solide) et RDE (ligne pointillée) à 1000 trs.min⁻¹ sur une électrode de Platine (Φ = 2mm) (ν = 5 mV.s⁻¹) de Fe^{II}(DmBpy)₃²⁺ dans CH₃CN contenant 0.1 M LiClO₄ (noir), LiPF₆ (rouge) ou LiTFSI (bleu) l'électrolyte de support.

Le voltamogramme montre que les valeurs ΔE_p restent proches de la valeur théorique (59.6 mV). Cependant, on peut observer qu'en présence de l'anion TFSI⁻, cette valeur augmente légèrement jusqu'à 106 mV (à 100 mV.s⁻¹). Ceci semble montrer que la cinétique du transfert d'électrons devrait être plus faible en présence de cet anion volumineux. D'autre part, en remplaçant ClO₄⁻ par PF₆⁻, aucun changement significatif n'est observé. Ces observations sont cohérentes avec les valeurs de k[°] (**tableau I**).

Tableau 4 : Valeurs de k[°], E[°] and ΔE_p du complexe Fe(DmBpy)₃²⁺ dans CH₃CN contenant les sels LiClO₄, LiPF₆ ou LiTFSI.

Electrolyte	k° (cm.s ⁻¹)	E° (mV)vs Ag/Ag ⁺ (E° vs Li ⁺ /Li)	ΔE_p (mV) ($v=100$ mV.s ⁻¹)
LiClO ₄	0.048 ± 10^{-3}	595 ± 2 (4.173)	72
LiPF ₆	$0.0365 \pm 2 \cdot 10^{-3}$	615 ± 1 (4,193)	74
LiTFSI	0.0096 ± 10^{-4}	620 ± 1 (4.198)	106

3.2. Comportement électrochimique du $[Fe(\text{BisbPy})_3]^{2+}$.

Cette étude a été réalisée afin d'estimer l'impact de la proximité des deux centres redox Fe^{II}/Fe^{III} sur la cinétique de transfert des électrons. L'objectif est de mieux comprendre le mécanisme redox global observé dans les complexes de coordination polymériques dans une configuration de batterie.

La **figure 2** présente la comparaison du comportement électrochimique des complexes de fer mononucléaires et binucléaires. On peut observer que dans le cas du complexe binucléaire, la valeur $E_{1/2}$ est significativement plus élevée par rapport au complexe mononucléaire (**Figure 2, Tableau 2**). Ceci indique que la contrainte structurale du complexe et la proximité des deux centres redox du fer ont un impact sur le comportement électrochimique global.

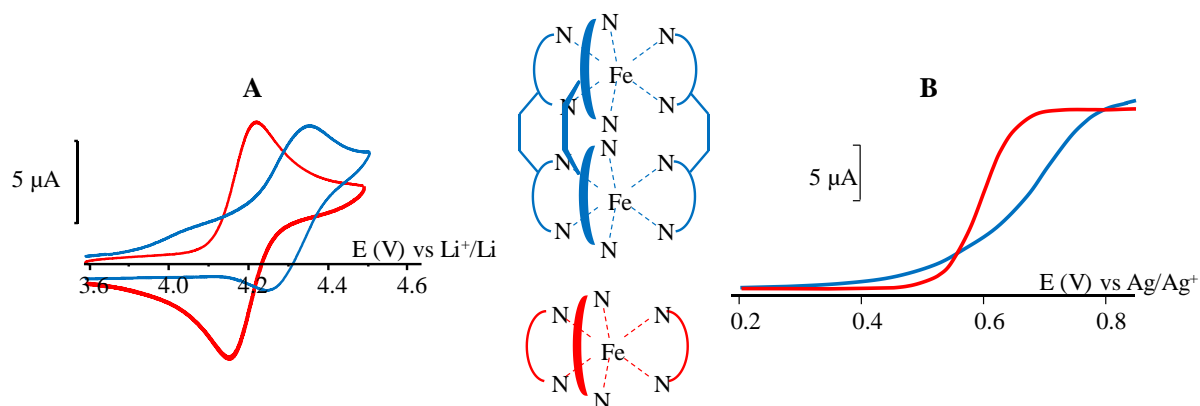


Figure 2 : Comportement électrochimique de $Fe(\text{DmBpy})_3^{2+}$ (10^{-3} mol.L⁻¹) et $Fe_2(\text{BisBpy})_3^{4+}$ ($5 \cdot 10^{-4}$ mol.L⁻¹) sur électrode de platine ($\Phi = 2$ mm) dans un électrolyte $\text{CH}_3\text{CN} + 1\text{M LiClO}_4$ **A**) voltammogramme cyclique, $v = 100$ mV.s⁻¹ **B**) voltammogramme sur RDE, $v = 5$ mV.s⁻¹, 1000 trs.min⁻¹

De plus, les courbes de voltamétrie cycliques montrent sans ambiguïté que pour le $[Fe_2(\text{BisBpy})_3]^{4+}$, le processus global est plus lent par rapport à l'analogue mononucléaire du fer, puisque ΔE_p passe de 72 mV pour le $[Fe(\text{DmbPy})_3]^{2+}$ à 102 mV pour le $[Fe_2(\text{BisBpy})_3]^{4+}$. La même conclusion peut être tirée concernant les courbes RDE, celle du complexe binucléaire étant plus déformée. Ceci conduit à une valeur k° globale plus faible pour le complexe binucléaire (**Tableau 2**). Le même comportement est observé dans un électrolyte à base de LiPF₆, alors que comme mentionné précédemment pour le complexe mononucléaire, la présence de TFSI a un impact sur la distorsion du voltammogramme.

Tableau 5 : Valeurs de K° et E° des complexes $Fe(\text{DmBpy})_3^{2+}$ et $Fe_2(\text{BisBpy})_3^{4+}$ dans l'électrolyte $\text{CH}_3\text{CN} + 1\text{M LiClO}_4$.

Complexes	k° (cm.s ⁻¹)	E° (mV)
$Fe(\text{dmbpy})_3^{2+}$	$4,8 \cdot 10^{-2} \pm 2 \cdot 10^{-3}$	594 ± 1
$Fe_2(\text{bisbpy})_3^{4+}$	$3,6 \cdot 10^{-2} \pm 2 \cdot 10^{-3}$	698 ± 10

Ces valeurs indiquent que la proximité des deux centres métalliques ferreux a un impact sur le comportement électrochimique global. On peut suggérer qu'une fois que le premier centre métallique a été oxydé, cela a conduit à une étape d'oxydation plus difficile pour le second, ce qui peut être dû à une certaine interaction électrostatique. Ceci peut expliquer le déplacement vers une valeur plus positive de la valeur E° pour le complexe binucléaire. Cependant, il faut souligner que cette interaction doit rester relativement faible, les deux processus à un électron n'étant pas distinguables.

3.3. Comportement électrochimique du matériau polymère $Fe_{2n}(BisbPy)_{3n}^{6n+}$

Etant donné que l'étude électrochimique précédente montre un comportement intéressant dans le $LiPF_6$ (valeur k° élevée), cette étude a été réalisée dans la batterie d'électrolytes couramment utilisée, à savoir le LP30 (EC/ DMC 1M $LiPF_6$), dont la stabilité est compatible [7] avec la valeur E° du système Fe^{II}/Fe^{III} (4.18V vs Li^+/Li). En raison de son caractère insoluble, cette étude a été réalisée à l'aide d'une microélectrode à cavité (**Figure 3**).

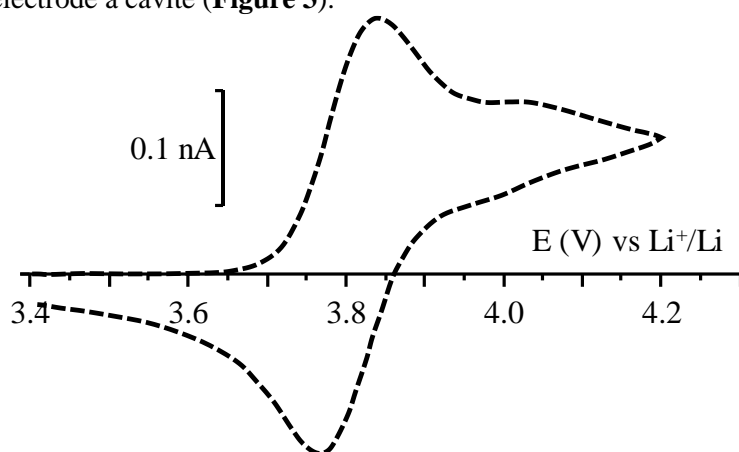


Figure 3 : Voltamogramme cyclique du matériau polymère $Fe_{2n}(BisbPy)_{3n}^{6n+}$ dans une microélectrode à cavité en carbone vitreux dans EC/ DMC 1M $LiPF_6$, $v= 100$ mV.s-1.

Comme le montre le voltamogramme cyclique, nous observons un signal réversible principal à $E^\circ = 3.81$ V vs Li^+/Li et un second signal plus faible à 4.1V. En se basant sur les résultats précédents déterminés pour des complexes de fer modèles montrant que selon l'environnement bipyridine la valeur de E° peut être changée, on peut proposer que ces deux signaux sont l'illustration de l'organisation différente des ligands autour des centres Fe^{II} . Le premier signal réversible principal centré à 3.81V vs Li^+/Li pourrait être attribué à la réponse du complexe Fe dont la structure est similaire à celle du $Fe(DmBpy)_3^{2+}$. Cette signature apparaît à une valeur plus basse par rapport au modèle mononucléaire Fe^{II} (près de 200mV plus bas). Un tel décalage cathodique a été observé précédemment en changeant l'électrolyte et a été attribué à l'effet du solvant et/ou à la concentration en sel de l'électrolyte. Il faut souligner que la valeur ΔE_p de ce système diminue en réduisant la vitesse de balayage (**Figure 4**). Ce comportement régulièrement observé pourrait être dû à la limitation du processus redox par la diffusion de l'ion dans le matériau cathodique (c'est-à-dire la percolation ionique). D'autre part, nous avons observé que les valeurs des pics de courant ne suivent pas parfaitement une relation linéaire en fonction de la racine carrée de la vitesse de balayage. On peut suggérer que cela pourrait être dû à la dissolution progressive du matériau au cours du cycle.

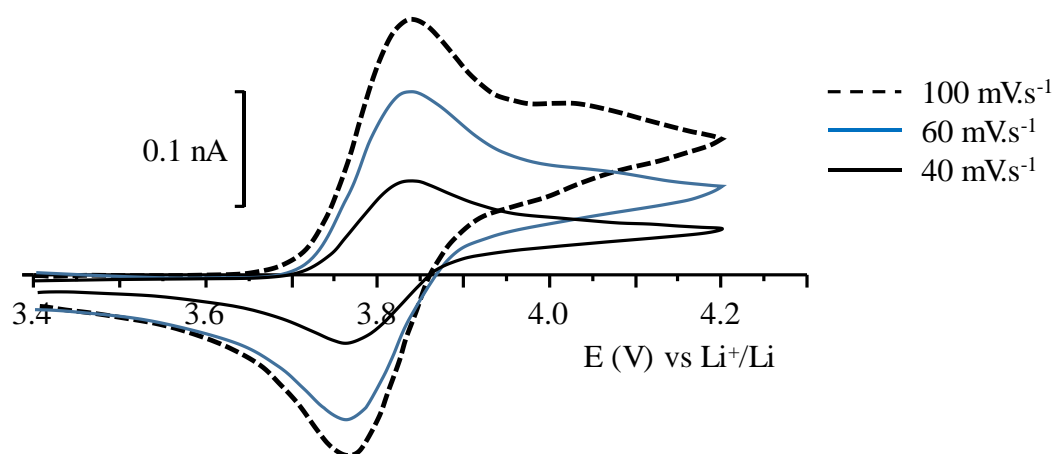


Figure 4. Courbe voltamétrie cyclique à différentes vitesses de balayage du matériau polymère $[\text{Fe}_{2n}(\text{BisbPy})_{3n}]^{6n+}$ sur microélectrode à cavité en carbone vitreux dans un électrolyte 1M LiPF_6 EC/DMC (1/1).

Bien que cette étude ne soit pas principalement dédiée au développement de batterie, nous avons testé $[\text{Fe}_{2n}(\text{BisbPy})_{3n}]^{6n+}$ comme matériau cathodique, dans une configuration swagelock, alors que le matériau cathodique est déposé comme une encre en présence de liant (PvDF) et de carbone additif (super p et GCVF) ; le comportement chimique de l'électrode proche est observé (Figure 5).

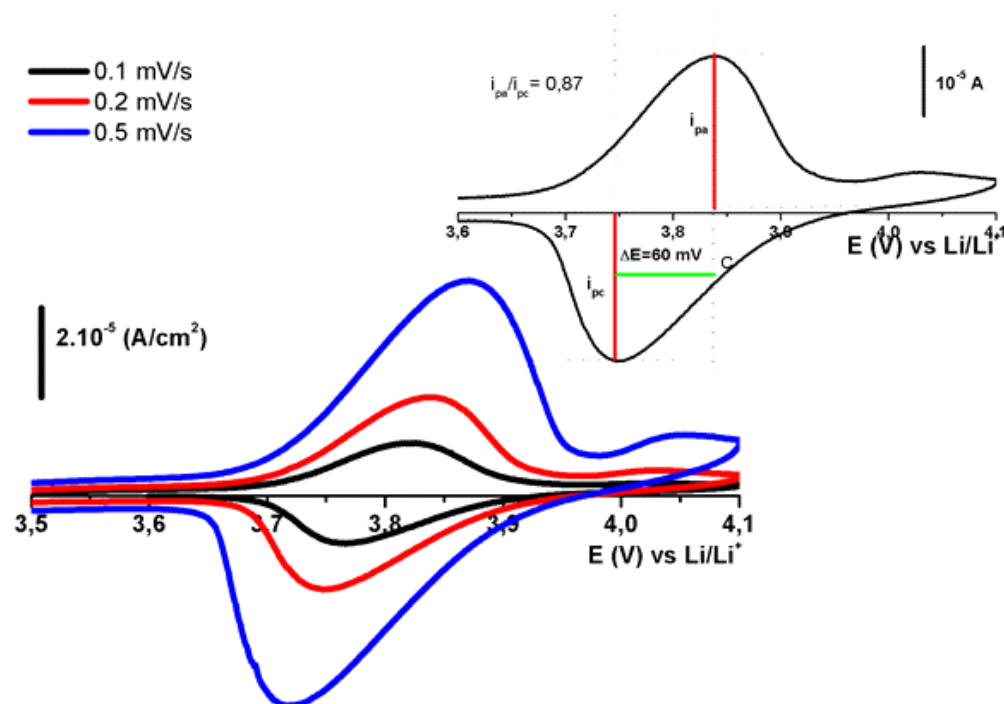


Figure 5 : Voltamétrie cyclique de l'électrode $[\text{Fe}_{2n}(\text{BisbPy})_{3n}]^{6n+}$ fraîchement préparée dans une configuration de batterie Composition de l'électrode : 65% matière active / 20% C-65 / 10% PVdF / 5% VGCF, Electrolyte : EC/ DMC 1M LiPF_6

Le voltammogramme cyclique de $[\text{Fe}_{2n}(\text{BisbPy})_{3n}]^{6n+}$ dans une configuration de batterie présente la même forme que le polymère étudié dans la microélectrode à cavité par l'observation d'un signal réversible principal centré à près de 3,8 V vs Li^+/Li et un plus petit à près de 4 V. Cependant, le voltammogramme cyclique apparaît plus déformé montrant que la percolation électronique / ionique n'est pas suffisante pour conduire à une valeur ΔE_p assez faible. Cette distorsion est fréquemment observée à une vitesse de balayage du potentiel relativement élevée (c'est-à-dire 0,1-0,2 $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$) et est principalement due à la faible percolation ionique/électronique au sein du matériau solide. Ceci est bien confirmé par la diminution de la valeur ΔE_p en diminuant la vitesse de balayage (49 mV à 0, 1 $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$ et 155 mV à 0,5 $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$).

En ce qui concerne la capacité massique en fonction du régime de charge C, on peut observer que certaines réactions secondaires se produisent pendant les processus de charge et de décharge, alors que dans la meilleure condition (régime C élevé), la capacité massique est significativement inférieure à la capacité théorique. Dans le meilleur des cas, près de 10 mAh.g⁻¹ sont obtenus par rapport aux 30 mAh.g⁻¹ attendus. Cette divergence est vraisemblablement due à la présence d'oligomères qui, au cours du cycle, se sont dissouts dans l'électrolyte, entraînant une grande différence entre le nombre de coulomb pendant la charge et celui pendant le chargement.

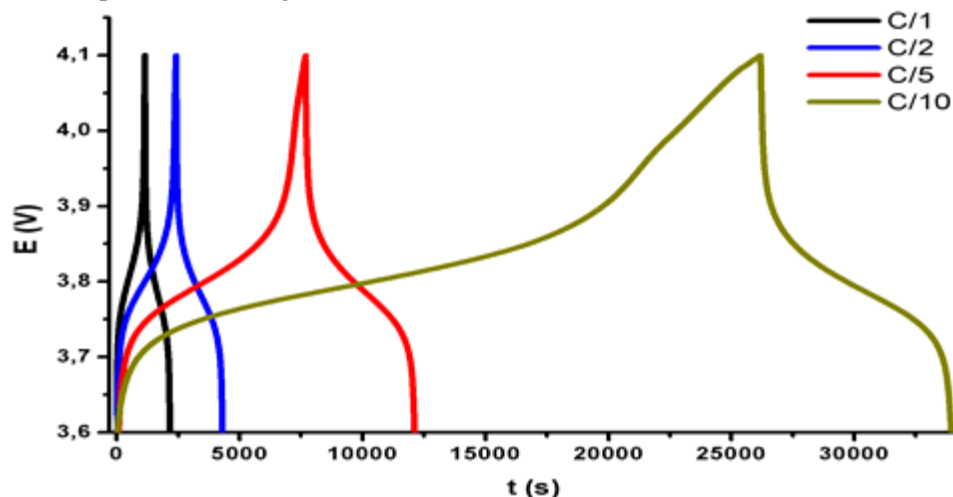


Figure 6 : Cycles de charge et de décharge à différents régimes d'une cellule basée sur le matériau actif $[\text{Fe}_{2n}(\text{Bisbpy})_{3n}]^{6n+}$ par rapport à Li^+/Li dans LP30.

4. Conclusion

En résumé, nous avons démontré que l'utilisation des complexes de coordination $[\text{Fe}(\text{DmBpy})_3]^{2+}$ et $[\text{Fe}_2(\text{Bisbpy})_3]^{4+}$ a permis d'apprécier le comportement électrochimique des complexes polymères de fer poly – bipyridine. Les réponses rédox fournissent une image relativement précise du comportement électrochimique du matériau polymère.

Cependant, il a été démontré qu'un tel matériau peut être utilisé comme matériau cathodique, notamment grâce au transfert rapide d'électrons, quelle que soit la contrainte induite par la sphère de coordination du Fe^{II} . Bien que les complexes de coordination étudiés présentent une masse moléculaire trop importante (et donc une capacité massique attendue trop faible : 30 mAh.g⁻¹), cette étude montre que pour des complexes de coordination à environnement organique (ligand) moins riche, un tel matériau peut être impliqué dans un contexte de batterie.

5. Bibliographie :

- [1]. Sancho, M. ;Rao, M.A. et Downing, D.L. J. Food Eng. (1997) 34; 145.
- [2]. Hong, L.; Zhaoxiang, W. ; Liquan C.; Xuejie, H. Advanced Materials (2009), 21(45); 4593.
- [3]. V. V Pavlishchuk, A.W. Addison, Conversion constants for redox potentials measured versus different reference electrodes in acetonitrile solutions at 25°C, Inorganica Chim. Acta. 298 (2000) 97–102. doi:10.1016/S0020-1693(99)00407-7.
- [4]. A.J. Bard, L.R. Faulkner, Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications - 2nd edition, Wiley, New-York, 2001.
- [5]. Dragu, D., Buda, M. & Vişan, T. Cyclic voltammetry simulation using orthogonal collocation: Comparison with experimental data and measuring the electrochemical rate constant. UPB Sci. Bull. Ser. B Chem. Mater. Sci. 71, (2009). 77–90.
- [6]. Mun, J., Lee, M.-J., Park, J.-W., Oh, D.-J., Lee, D.-Y. & Doo, S.-G. Non-Aqueous Redox Flow Batteries with Nickel and Iron Tris(2,2'-bipyridine) Complex Electrolyte. Electrochem. Solid-State Lett. 15, (2012). A80
- V. V Pavlishchuk, A.W. Addison, Conversion constants for redox potentials measured versus different reference electrodes in acetonitrile solutions at 25°C, Inorganica Chim. Acta. 298 (2000) 97–102. doi:10.1016/S0020-1693(99)00407-7.

Étude de l'impact de la variation des proportions des matières premières minérales sur les propriétés technologiques d'une porcelaine

Youssef Sawadogo ^{a*}, Moussa Ouédraogo ^a, Nassio Sory ^a, Moustapha Sawadogo ^a, Mohamed Seynou ^a,
Lamine Zerbo ^a, Philippe Blanchart ^b

^a Laboratoire de Chimie Moléculaire et des Matériaux (LC2M), Université Joseph KI-ZERBO, Burkina Faso

^b Institute of Research in Ceramic (IRCER), UMR-CNRS, European Ceramic Center, Limoges, France

* Auteur Correspondant : s.youssef@ymail.com

Groupe thématique : REMOA

Résumé :

La formulation de la porcelaine traditionnelle requiert généralement 50 % de kaolin, 25 % de silice et 25 % de fondant (feldspath généralement). Ce présent travail est consacré à l'étude de l'impact de la variation des proportions des matières premières locales sur les propriétés technologiques d'une porcelaine. Quatre nuances (F₁, F₂, F₃ et F₄) utilisant la méthode de coulage, ont été préparées avec différents pourcentages d'argile kaolinique (NONG), de sable (SAB) et de pegmatite (PEG). Les caractéristiques physico-chimiques, mécaniques et minéralogiques ont été évaluées sur des éprouvettes formulées et frittées à différentes températures allant de 1200 °C à 1300 °C. La diffraction des rayons X (DRX) a révélé la présence de mullite et de quartz comme phases essentiellement cristallines. L'éprouvette formulée avec 55% NONG, 25% PEG et 20% SAB et frittée à 1240 °C donne de meilleures performances : absorption d'eau (0,17%), densité (2,42), porosité ouverte (0,42%) et résistance à la flexion (53,54 MPa).

Mots clés : Matières premières, Porcelaine, Caractérisation et Minéralogie

Impact study of the variation of the proportions of raw materials mineral on the technological properties of a porcelain

Abstract :

Formulation of traditional hard porcelain generally requires 50% kaolin, 25% silica and 25% feldspar. This present work is devoted to impact study of the proportions variation of raw materials on the technological properties of a porcelain. Four porcelains formulation (F₁, F₂, F₃ and F₄) using the casting method, were prepared with different percentages of kaolinitic clay, sand and pegmatite referenced respectively NONG, SAB and PEG. The physico-chemical, mechanical and mineralogical characteristics were evaluated on specimens formulated and sintered at different temperatures from 1200 °C to 1300 °C. X-ray diffraction has revealed the presence of mullite and quartz as essentially crystalline phases. The specimen formulated with 55% NONG, 25% PEG and 20% SAB and sintered at 1240 °C gives better performance (water absorption: 0.17%, density : 2.42, open porosity : 0.42% and flexural strength : 53.54 MPa).

Key words : raw minerals, porcelain, characterization and mineralogy

1. Introduction

La plupart des céramiques sont des matériaux multiphasés qui contiennent à la fois des phases cristallines et des phases vitreuses. Mais on peut également observer des agglomérats de cristaux millimétriques à microstructure très poreuse ou des polycristaux à grains fins (<10 microns) sans phases vitreuses et de très faible porosité. Outre la nature chimique des composés, c'est la microstructure des matériaux (taille, forme des grains, taux et types de porosité, répartition des phases) qui contrôle leurs propriétés. Dans ce présent travail, nous étudions l'impact des teneurs en poudre de différentes matières premières utilisées dans la production de porcelaine. La porcelaine est un produit céramique formulé à partir d'un mélange de trois matériaux : argile et kaolin ; quartz; feldspath. C'est un produit vitrifié très compact à faible porosité. La porcelaine est un produit esthétique et généralement blanc, semi-transparent, imperméable, résistant aux acides et bases forts

et aux abrasifs. Dans les corps en porcelaine, lors du traitement thermique, le principal composant kaolinite ($(Al_2Si_2O_5)-(OH)_4$) se transforme en métakaolinite à 550–600 °C, qui est une structure amorphe métastable déshydratée. Puis, à 950–1000 °C, cette dernière se transforme en une structure spinelle et en silice amorphe. Dans le même temps, les grains de feldspath réagissent avec les phases de silice et de kaolinite pour former une phase liquide visqueuse à 990 °C. À ce stade, les grains de quartz commencent à se dissoudre dans la phase liquide. Au-dessus de 1100 °C, la phase spinelle se transforme en mullite primaire et en silice. Au-dessus de 1200 °C, des cristaux secondaires de mullite croissent, suite à la réaction de l'argile avec les grains de feldspath [1]. Aujourd'hui, la porcelaine est produite dans de nombreux pays et sa technologie est bien connue et décrite dans divers manuels et documents [2]. Les matériaux en porcelaine sont utilisés comme principaux outils de la femme au foyer. Cette forte demande liée à leurs propriétés justifie l'intérêt que les chercheurs portent à ces matériaux. Dans cette étude, nous évaluons l'impact de la variation des teneurs des matières premières utilisées sur les propriétés physico-chimiques des pièces produites telles que l'absorption d'eau, la porosité, la densité, la minéralogie et la résistance à la rupture en flexion.

2. Matériels et méthodes

2.1. Matières premières utilisées

Les échantillons utilisés dans ce travail sont une argile kaolinitique, une pegmatite et du sable. Ces échantillons sont référencés respectivement NONG, PEG et SAB et proviennent de deux régions du Burkina Faso : la région du Haut Bassin et la région du Nord. Nongfairé est une localité située à une quarantaine de kilomètres de Ouahigouya (environ 39 km au sud-est de Ouahigouya) dans la commune rurale de Oula. NONG est échantillonné à partir du site de Nongfairé aux coordonnées géographiques 2° 09' Longitude Ouest et 13° 29' Latitude Nord. Le PEG et le SAB sont collectés respectivement dans les gisements de Kotédougou et de Borodougou et aux coordonnées géographiques respectivement 4° 4' Ouest, 11° 7' Nord et 11° 10' Nord, 4° 17' Ouest [3].

2.2. Formulation

Pour optimiser les teneurs en NONG, PEG et SAB, plusieurs types d'échantillons référencés F1, F2, F3 et F4 selon la composition de la barbotine (**tableau 1**) ont été formulés. Chaque mélange est composé de poudre broyée à une granulométrie inférieure à 100 µm. Pour assurer une bonne dispersion de la barbotine, 0,5 % en masse de carbonate de sodium (défloculant) a été utilisés [4]. 1000 g de mélange de matières premières, 5 g de carbonate de sodium, d'eau et de billes sont mis en mouvement dans une jarre pendant 10 minutes par un tourne jarre à une vitesse de 75 tours par minute afin d'avoir un mélange homogène. Le mélange appelé barbotine est ensuite coulé dans des moules en plâtre. Le rôle du moule en plâtre est d'absorber l'eau non liée grâce à ses micropores et cela permet d'obtenir des éprouvettes crues. L'eau (teneur 1 : 2 en matière sèche) utilisée pour la préparation de la barbotine provient du réseau urbain de Ouagadougou alimenté par l'Office National de l'Eau et de l'Assainissement (ONEA) du Burkina Faso. Après séchage, les éprouvettes sont cuites dans un four de marque NABERTHEM P330. Afin d'obtenir des produits partiellement vitrifiés, tous les échantillons ont été frittés à des températures supérieures ou égales à 1200 °C avec des pas de 20 °C. La vitesse de chauffage moyenne est de 10°C/min jusqu'à ce que la température finale soit atteinte. En fin de cuisson, le refroidissement s'effectue librement à température ambiante grâce au système de refroidissement intégré du four. Des éprouvettes cuites sont récupérées pour être testées afin d'évaluer leurs qualités. La figure 1 présente le schéma du traitement thermique.

Tableau 1 : Compositions des barbotines de matières premières

Références		F ₁	F ₂	F ₃	F ₄
Composition massique des matières premières	Argile (NONG)	50	55	60	65
	Pegmatite (PEG)	25	25	20	20
	Sable (SAB)	25	20	20	15
Pourcentage d'eau		50	55	60	65

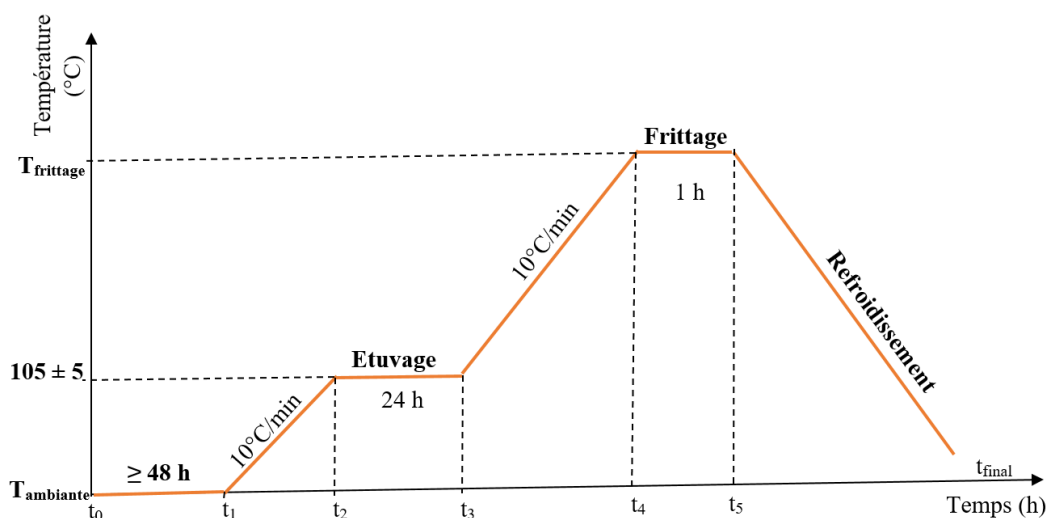


Figure 1 : Diagramme qualitatif de traitement thermique des échantillons

2.3. Méthodes expérimentales

Les analyses chimiques des échantillons ont été réalisées par fluorescence X et la perte au feu a été obtenue avec un four de type Nabertherm 250C à la température de 1000°C et à une vitesse de 10°C/min avec un palier de 2 heures.

La viscosité des barbotines a été déterminée à l'aide d'un appareil de mesure de type viscosimètre Brookfield modèle DV-1+ et étalonné sur la série du modèle LV. Toutes les valeurs ont été lues après 5 minutes d'immersion de la broche.

La densité indique la teneur en minéraux de la barbotine et la quantité d'eau de traitement. Un volume (V) de barbotine est pesé (Mb) dans un bécher, puis le bécher vide est pesé (Mv) à l'aide d'une balance. La valeur de la densité est déterminée par l'équation 1 suivante :

$$d = \frac{M_b - M_v}{V} \quad (1)$$

Mb : masse du bécher contenant la barbotine (g) ;

Mv : masse du bécher vide (g) ;

V : volume de la barbotine dans le bécher.

La détermination du pourcentage de passants sur un tamis de 40 µm des barbotines après le calcul de densité est très importante et doit être effectuée. Une quantité du mélange de poudres (sèches) Mi (g) est pesée, elle est ensuite passée au tamis de 40 µm (tamisage humide). Le résidu est séché à l'étuve à 105°C et sa masse Mr (g) est pesée. Le pourcentage de passants est calculé à l'aide de la formule de l'équation 2 :

$$\% \text{ passants}_{40 \mu\text{m}} = \frac{M_i - M_r}{M_i} \times 100 \quad (2)$$

Le pH des barbotines a été déterminé après chaque agitation des suspensions afin d'éviter le phénomène de thixotropie à l'aide d'un pH-mètre de marque (PCE-PHD 1) équipé d'une électrode combinée.

La perte de masse des éprouvettes est déterminée par l'équation ci-dessous conformément à la norme ASTM D7348-08 [5].

Les dimensions du matériau sont mesurées avant et après frittage (traitement thermique). La différence entre ces dimensions du matériau donne le retrait linéaire. L'équation 3 ci-dessous donne l'expression du retrait [6] :

$$R(\%) = \frac{L_i - L_f}{L_i} \times 100 \quad (3)$$

Avec : R (%) : taux de retrait ; L_i : longueur initiale du matériau avant séchage ; L_f : longueur finale du matériau après séchage

L'absorption d'eau (E) des éprouvettes de cuisson a été déterminée selon la norme ISO 10545-3 [7].

La masse volumique apparente des échantillons a été déterminée conformément à la norme ISO 10545-3 [7].

Les propriétés mécaniques en flexion sont obtenues par des essais de flexion trois points avec des éprouvettes de section rectangulaire. La résistance à la rupture a été obtenue avec des échantillons ayant une largeur (W) égale à 9 mm et une épaisseur (B) entre 6 et 8 mm. Le dispositif de cintrage à 3 points avait une portée $L = 40$ mm. L'appareil d'essai était de type Instron, équipé d'une cellule de charge de 10 kN et du logiciel Bluehill 2. La charge maximale à la rupture (F_r) a été convertie en résistance à la rupture (σ_r) en utilisant la relation habituelle (équation 4) valable pour les échantillons rectangulaires [10].

$$\sigma_r = \frac{3}{2} \frac{LF_r}{BW^2} \quad (4)$$

Les compositions minéralogiques ont été obtenues par diffraction des rayons X à l'aide d'un diffractomètre de type Brüker D8 fonctionnant à 40 kV-40 mA et utilisant le rayonnement $\text{CuK}\alpha$ monochromatique. Les diffractogrammes obtenus ont été analysés à l'aide du logiciel QualX, en utilisant la base de données POWCOD.

3. Résultats

3.1. Analyse chimique et minéralogique des matières premières

La composition chimique des matières premières utilisées est présentée dans le tableau 3. Les données indiquent que l'argile et la pegmatite sont des aluminosilicates. Pour NONG, le rapport $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$ ($\approx 1,73$) est supérieur à celui de la kaolinite pure ($\approx 1,18$), du fait de la présence de silice libre. La teneur relativement élevée en oxyde de potassium (% $\text{K}_2\text{O} = 2,09$) montre la présence de phases micacées (muscovite ou illite). Pour le PEG, une teneur assez élevée en oxydes alcalins (% $\text{K}_2\text{O} + \% \text{Na}_2\text{O} = 7,17$) montre la prédominance des minéraux mixtes feldspathiques et des phases mica. Pour SAB, la forte prédominance de la silice résulte du quartz [3]. Cependant, la faible teneur en Fe_2O_3 fait des matières premières très attractives pour plusieurs industries céramiques [11].

Les résultats de la caractérisation minéralogique ont montré que l'argile NONG contient de la kaolinite (62%), de l'illite (18%), du quartz (17%) et du rutile (1%). La pegmatite PEG contient de l'albite (17%), de la muscovite (44%) et du quartz (34%). Le sable SAB est principalement composé de quartz [3].

Tableau 3 : Composition chimique des matières premières.

Oxydes	SiO_2	Al_2O_3	CaO	K_2O	MgO	Na_2O	TiO_2	Fe_2O_3	PF*	Total
NONG	54,59	31,5	0,03	2,09	0,54	0,29	1,43	0,87	7,29	98,63

PEG	66,01	22,31	0,38	5,15	0,13	2,02	0,02	0,99	2,96	100,05
SAB	86,67	9,82	0,13	0,07	0,05	0,16	0,3	0,1	2,70	100

*PF: Perte au feu à 1000 °C.

3.2. Propriétés rhéologiques et composition chimique des barbotines

Pour former des composants céramiques par coulage en barbotine, il est nécessaire de spécifier dans la formulation de la suspension les types et les quantités de fluide, de dispersant, de modificateur de pH et de liant [12]. Certains paramètres de rhéologiques ont été déterminés afin d'évaluer leur influence sur les produits finis. Ainsi, la granulométrie crue des poudres était de 100 µm pour tous les grades F1, F2, F3 et F4. Après obtention de cette barbotine, la granulométrie évolue conformément au **tableau 4**.

Tableau 4 : Quelques paramètres caractéristiques des barbotines mesurées

Nuances	Viscosité at 29,3 °C		Densité	pH at 25 °C	Passants (%)		
	Viscosité /10 ³ (cP)	Couple de torsion (%)			40 µm	63 µm	100 µm
F₁	64,32 ± 3	30,04	1,72	10,57	87,91	93,96	100
F₂	63,12 ± 3	27,10	1,60	10,26	69,37	86,88	100
F₃	73,14 ± 3	32,10	1,56	10,32	74,55	92,89	100
F₄	59,04 ± 3	24,70	1,50	10,38	77,67	90,65	100

Les barbotines obtenues sont tous basiques (pH > 10). Les viscosités sont mesurées avec un couple de torsion supérieur à 15 % et sont comprises entre 55 000 et 75 000 cP. Les valeurs relativement élevées (de l'ordre de 10³ cP) sont dues à l'utilisation de carbonate de sodium comme défloculant. Les densités évaluées sont relativement élevées (1,5–1,75). Plus de 60% des passants de barbotine sont de tailles inférieures à 40 µm et plus de 85 % sont de tailles inférieures à 63 µm. L'analyse chimique montre que le rapport SiO₂/Al₂O₃ diminue dans l'ordre de F1 à F4 tandis que le rapport K₂O/Na₂O augmente de 1,52 à 2,24 (**Tableau 5**). Cependant, les pourcentages d'oxyde alcalin (% K₂O + % Na₂O) sont plus élevés pour les nuances F2 (3,23 %) et F4 (3,11 %) que pour F1 (3,02 %) et F3 (3,02 %).

Tableau 5 : Composition chimique des nuances

Oxydes	SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	CaO	MgO	K ₂ O	Na ₂ O	Total	K ₂ O/Na ₂ O
F₁	69,91	17,9	0,74	0,73	0,31	1,82	1,2	92,6	1,52
F₂	67,11	20,56	0,81	0	0,35	2,11	1,12	91,75	1,88
F₃	67,05	20,91	0,79	0	0,37	2,03	0,99	91,79	2,05
F₄	65,62	21,81	0,82	0	0,39	2,15	0,96	91,43	2,24

3.3. Retrait linéaire au frittage et densité apparente

Les retraits linéaires des éprouvettes de porcelaine ont une tendance similaire, comme le montre la **figure 2a**. Le retrait linéaire des éprouvettes augmente continuellement avec l'augmentation de la température et atteint la valeur maximale (13,7 à 15,6 %) [13]. Le retrait diminue avec la teneur en sable de l'échantillon. Notez que le retrait linéaire se comporte différemment en dessous et au-dessus de 1280 °C pour F2 et F3.

La densité apparente est inversement proportionnelle à la porosité et à l'absorption d'eau. La densité apparente de toutes les nuances augmente avec la température de cuisson et diminue à partir de la température de 1280 °C, comme illustré à la **figure 2b** ci-dessous. A partir de 1220 °C, les densités sont de plus en plus élevées allant de 2,3 à 2,5 [14]. Ils diminuent au-dessus de 1280 °C. Cela pourrait être dû à une forte production de phase vitreuse entraînant ainsi des ballonnements [15]. Le ballonnement est la formation de vides ou de pores dans la microstructure causée par l'expansion des gaz piégés dans ces pores. L'origine des gaz piégés dans la phase vitreuse peut être associée à la perte d'hydroxyle (OH) des cristaux de kaolinite et à la libération d'oxygène due à la décomposition de l'oxyde ferrique (Fe_2O_3 en Fe_3O_4) [16]. Les ballonnements affectent également de manière significative les propriétés électriques, mécaniques et structurelles des porcelaines. Généralement, la température limite de cuisson et la phase vitreuse optimale sont obtenues lorsque la porosité apparente et l'absorption d'eau atteignent leurs valeurs minimales et que la densité du corps atteint son maximum [17]. L'échantillon F2 a une densité apparente plus élevée que les autres grades à des températures de 1220–1280 °C jusqu'à une densification optimale. A 1200 °C, l'échantillon F1 a une densité apparente plus élevée que F2. Le retrait linéaire de l'échantillon F2 diminue une fois à 1260 °C et peut entraîner une fissuration du matériau. L'éprouvette F1 présente le retrait linéaire le plus faible.

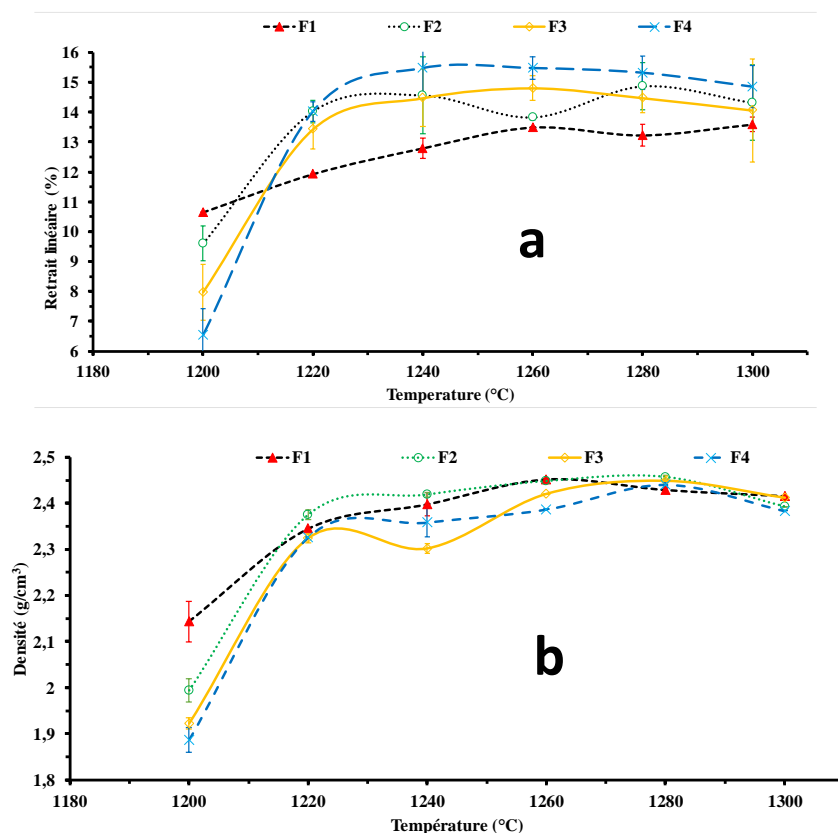
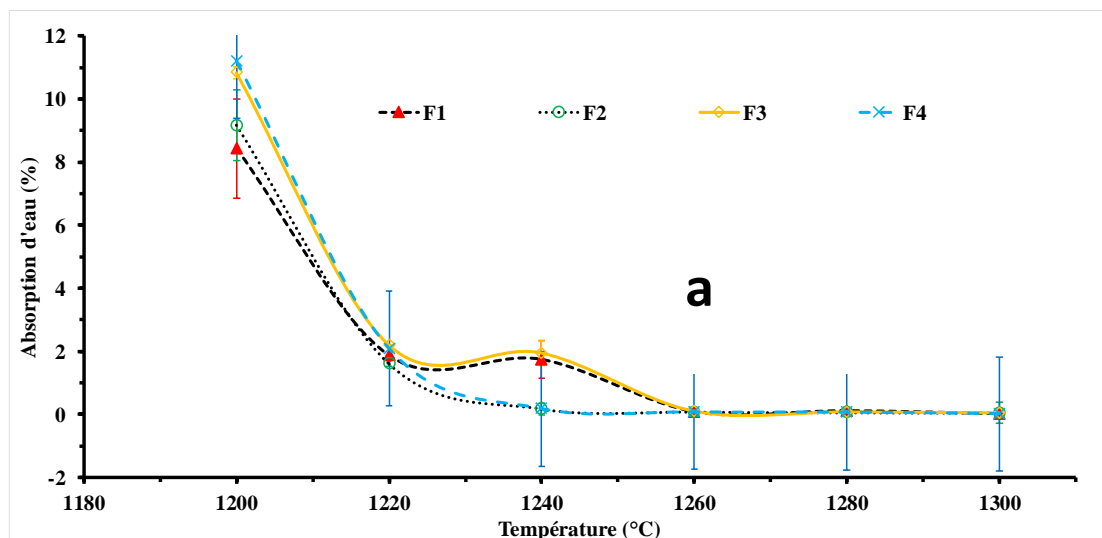


Figure 2: a- Evolution du retrait linéaire à la cuisson des éprouvettes frittées en fonction de la température. b- Densité apparente des éprouvettes frittées en fonction de la température

3.4. Taux d'absorption d'eau et porosité

L'absorption d'eau et la porosité ouverte de toutes les éprouvettes diminuent avec l'augmentation de la température de frittage et atteignent un minimum à 1300 °C, comme le montrent les **figures 3**. Cela peut s'expliquer par la fusion des phases feldspathiques et la formation d'une phase vitreuse due à l'augmentation de la température de cuisson. Selon Iqbal et Lee (2000) [18], le feldspath fond à une température plus basse que les autres constituants de la porcelaine, et les mélanges d'argile et de grains de feldspath ont la viscosité la plus faible. Le liquide issu de la phase vitreuse remplit donc les pores ouverts de la microstructure et conduit à une densification du produit [19]. La **figure 3a** indique en outre que F2 et F4 ont atteint la vitrification avec une absorption d'eau de 0,17 % à 1240 °C, contre 0,09 % à 1260 °C pour F1 et F3. Le même phénomène de mobilité du verre est également observé dans le cas des émaux contenant du K₂O et du Na₂O lors de la cuisson [20]. La porosité (**Figure 3b**) diminue également avec l'augmentation de la température de frittage en raison de la formation d'une phase vitreuse principalement dérivée de la pegmatite. Cette phase liquide est en partie le résultat de la transformation des minéraux plastiques de la matière première comme la kaolinite. Il se forme par réaction entre la silice libre, l'alumine et les alcalis selon le système ternaire SiO₂-Al₂O₃-K₂O [21, 22]. L'augmentation de la température entraîne une augmentation de la quantité de phase liquide et une diminution de la viscosité de la phase liquide et remplit les pores du corps. Par conséquent, la porosité diminue [17]. Les pores sont considérés comme des défauts intrinsèques qui peuvent être le facteur prédominant de détérioration de la résistance [23]. L'absorption d'eau et la porosité des éprouvettes F1 et F3 gardent des valeurs constantes entre 1220 °C et 1240 °C à l'opposé de F2 et F4 qui augmentent entre 1220 °C et 1260 °C. Les quantités optimales de phases liquides sont obtenues à partir de 1240 °C pour les éprouvettes F2 et F4 et à partir de 1260 °C pour F1 et F3. Cette différence de 20 °C est d'une grande importance technologique pour les fabricants des produits vitrifiés afin d'économiser l'énergie thermique.



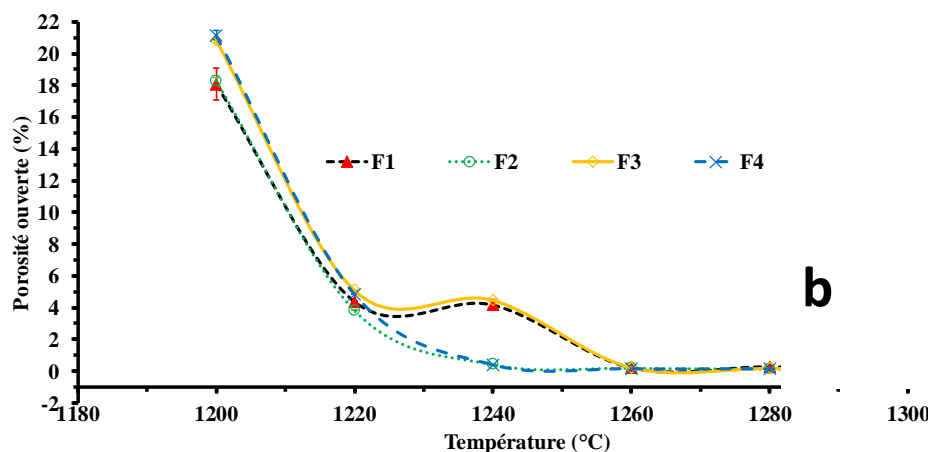


Figure 3: a- Variation de l'absorption d'eau des éprouvettes frittées en fonction de la température. b- Evolution de la porosité des éprouvettes frittées en fonction de la température

3.6. Résistance mécanique des éprouvettes

La résistance à la flexion (**figure 4**) de tous les échantillons augmente avec l'augmentation de la température de frittage. Les valeurs maximales de contrainte de flexion sont conformes aux spécifications de résistance commerciale de la porcelaine (> 35 MPa) [24]. Habituellement, la résistance à la flexion maximale se développe dans un corps de porcelaine lorsque la porosité diminue et tend vers zéro [25]. Au cours du processus de frittage, une phase liquide se forme aux joints de grains, dont la quantité dépend de l'augmentation de la température de frittage. En effet, avec l'augmentation de la teneur en argile NONG, la quantité de plastique et de minéraux fondants augmente et donc la phase liquide devient plus importante. Cette phase est en grande partie responsable de la résistance mécanique des produits frittés [9]. L'augmentation de la quantité de phase liquide à haute température affecte négativement la résistance mécanique [15]. La résistance à la flexion augmente avec l'augmentation de la densité apparente. La nuance F2 a les valeurs de résistance mécanique les plus élevées (53,50 MPa à 1240 °C). Cette évolution a également été observée par S. K. Das et K. Dana pour les compositions triaxiales en porcelaine [26].

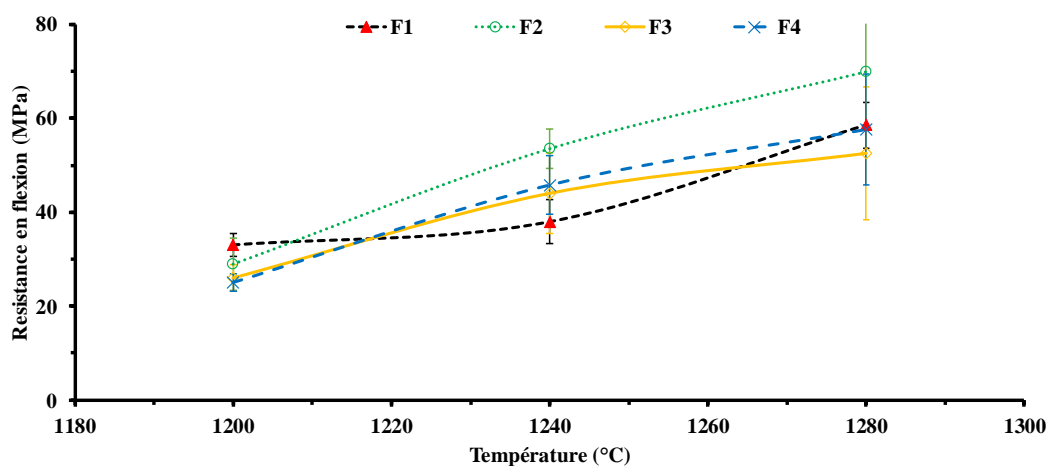


Figure 4: Variation de la résistance à la rupture des éprouvettes frittées en fonction de la température

3.7. Minéralogie et microstructure

La DRX de tous les échantillons (F1, F2, F3 et F4) frittés à 1240 °C (**figure 5**) montre que les échantillons sont pratiquement identiques en ce qui concerne les phases et les quantités de constituants. Le quartz et la mullite sont les principales phases cristallines identifiées dans tous les échantillons. La mullite est une phase cristalline d'une grande importance technologique en raison de ses excellentes propriétés

techniques, telles que : faible dilatation et conductivité thermique ($\sim 4,5 \cdot 10^{-6} \text{ }^\circ\text{C}^{-1}$ et $6 \text{ kcal.m}^{-1}.\text{h}^{-1}.\text{ }^\circ\text{C}^{-1}$ à $20 \text{ }^\circ\text{C}$, respectivement), et une résistance à la rupture et une ténacité appropriées ($\sim 200 \text{ MPa}$ et $\sim 2,5 \text{ MPa.m}^{1/2}$, respectivement). De plus, il présente une résistance élevée au fluage, une stabilité à la corrosion et une stabilité thermique. Toutes ces caractéristiques font actuellement de la mullite l'une des phases les plus importantes de la céramique traditionnelle et avancée [27]. La **figure 6** montre qu'à des températures de cuisson plus élevées ($\geq 1240 \text{ }^\circ\text{C}$), la teneur en mullite a augmenté aux dépens du quartz dans F2. Les pics de mullite augmentent à mesure que la température de cuisson augmente. Les pics de quartz par contre, s'atténuent et diminuent progressivement avec l'augmentation de la température. Ce résultat suggère que la dissolution du quartz peut se produire sur une plus grande plage de températures de cuisson.

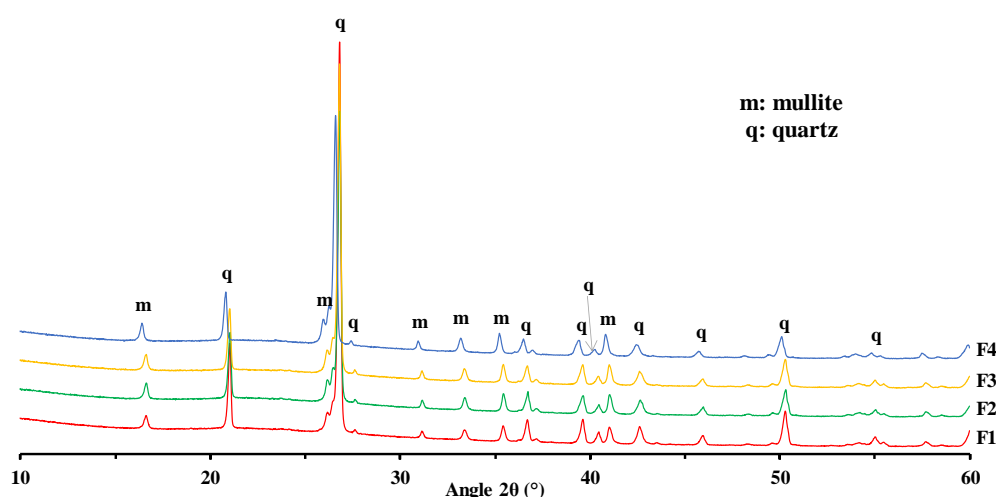


Figure 5: Diffractogrammes des poudres des éprouvettes frittées à $1240 \text{ }^\circ\text{C}$

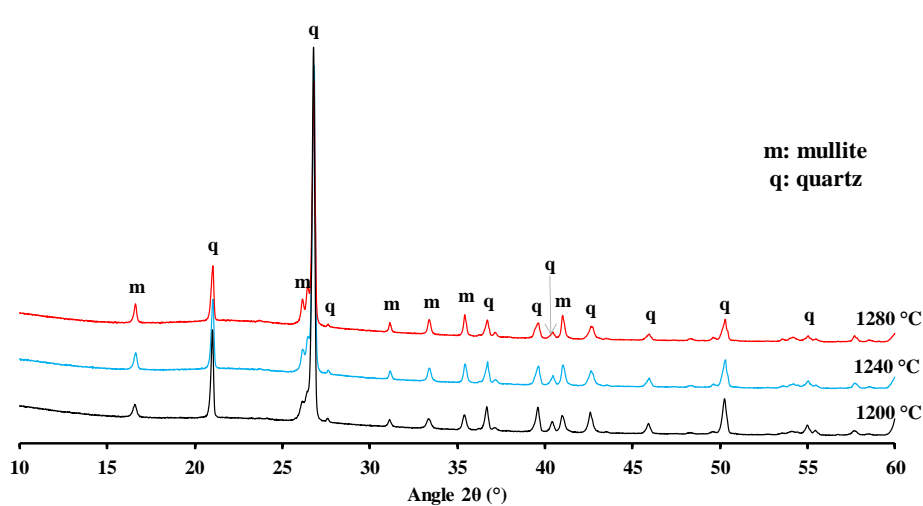


Figure 6: Diffractogrammes des poudres de l'éprouvette F2 frittées à différentes températures

4. Discussion

Une teneur plus élevée en muscovite agit comme fondant et forme une phase liquide visqueuse à la température de cuisson. La densification de la porcelaine est essentiellement motivée par la fusion progressive de la muscovite et du quartz. Selon la composition chimique des matières premières du **tableau 3**, la porcelaine est constituée d'éléments alcalins (Na, K) et alcalino-terreux (Mg, Ca). Ces éléments agissent comme fondants lors du frittage, favorisant la densification et réduisant par conséquent la porosité du produit final [28]. Selon B. Tarhan et al. (2017) l'effet alcalin mixte, dans

lequel différents ions alcalins sont présents en même temps, provoque une diminution de la viscosité avec le remplacement initial de Na_2O par K_2O [29]. L'effet alcalin mixte contribue à étendre la plage de d'obtention de la phase vitreuse. Selon C.M.F. Viera et al. (2004), les fondants sont des matières premières à forte teneur en oxydes alcalins, principalement K_2O et Na_2O , qui, en réaction avec la silice et l'alumine, favorisent la formation d'une phase liquide qui facilite la densification. La phase liquide entoure les particules solides et par tension superficielle permet l'approche des particules, fermant la porosité [30, 31].

De plus, la cuisson à des températures supérieures à 1240 °C améliore la résistance mécanique. La muscovite et l'illite sont des minéraux de mica qui contiennent du potassium. Théoriquement, une forte teneur en potassium peut conduire à la superposition d'une grande quantité de masse fondue à la formation de mullite dans les corps céramiques à base d'argile riche en illite. Lecomte et al. (2007) ont étudié l'influence de la muscovite sur la transformation thermique de la kaolinite de la température ambiante à 1100 °C [32]. Ils ont souligné que l'interaction de la muscovite et de la kaolinite à des températures supérieures à 900 °C était principalement corrélée à la diffusion des ions potassium des plaquettes de muscovite dans la structure de la métakaolinite. La diffusion des ions potassium dans la structure métakaolinite a facilité la cristallisation précoce (1050 °C) de la mullite et la croissance des aiguilles de mullite [27].

De l'évolution du retrait linéaire, de l'absorption d'eau et de la densité avec la température, on observe les mêmes tendances d'une part avec F1 et F3 et d'autre part avec F2 et F4. La résistance mécanique augmente globalement avec la température mais elle est dépendante de la quantité d'oxyde de métal alcalin. Les variations particulières de densité, d'absorption d'eau, de porosité et de résistance à la flexion du F2 s'expliquent par le fait que la matière première contient des concentrations importantes d'oxydes alcalins ($\text{Na}_2\text{O} + \text{K}_2\text{O}$) mais aussi d'oxyde de fer Fe_2O_3 . Bien que l'oxyde de fer donne une couleur brune au produit final, il contribue à la formation d'une phase vitreuse. La présence de ces oxydes explique la meilleure fusibilité de F2 à partir de 1240 °C. Le rapport granulométrique ($(\phi > 40\mu\text{m}) / (\phi \leq 40\mu\text{m})$) des matières premières de départ pourrait expliquer le comportement de grésification (changement de densité, de porosité, etc.) et la résistance mécanique de F2. Par rapport aux autres nuances, ce rapport est de 0,44 pour F2 ce qui est relativement élevé et indique un caractère plus ou moins homogène des grains composant l'échantillon avant cuisson.

Le diagramme (**figures 5 et 6**) de diffraction des rayons X a montré que les intensités des pics de mullite sont relativement faibles. Le constat qui a été fait est qu'en augmentant la quantité d'argile NONG, on observe une augmentation des intensités des pics de mullite alors que celles des pics de quartz diminuent. Une température et une composition optimales auxquelles des quantités considérables de cristaux de quartz et de mullite existent dans la phase vitreuse. Cela maximiserait les propriétés physiques, mécaniques et diélectriques [33].

D'après le graphique présenté à la **figure 8**, nous voyons que pour toutes les températures expérimentales, la température de cuisson optimale est de 1240 °C avec 55% d'argile kaolinitique, 25% de pegmatite et 20% de sable comme matières premières. A cette température elle donne un bon compromis pour tous les paramètres technologiques mesurés. L'utilisation de cette composition est en accord avec la combinaison faite par Y.M. Chang et al. (1997) dans le diagramme ternaire donnant un mélange de mullite, de quartz et de liquide au produit final cuit à 1300 °C [34]. Dans ce travail, une température de 1240 °C donne un bon compromis pour tous les paramètres technologiques mesurés. Il permet d'éviter un taux d'absorption d'eau supérieur à 0,5%, d'avoir des performances mécaniques maximales (≥ 35 MPa), une perte de masse à la cuisson (entre 4 et 4,5%) et un retrait linéaire acceptable (<15%). Selon Abeer A. El-Fallal et al. (2008) il a été démontré que la présence de phase cristalline de leucite améliore les propriétés mécaniques [35]. Dans notre travail, la résistance à la flexion significativement plus élevée peut-être attribuée à la présence de phases cristallines de mica.

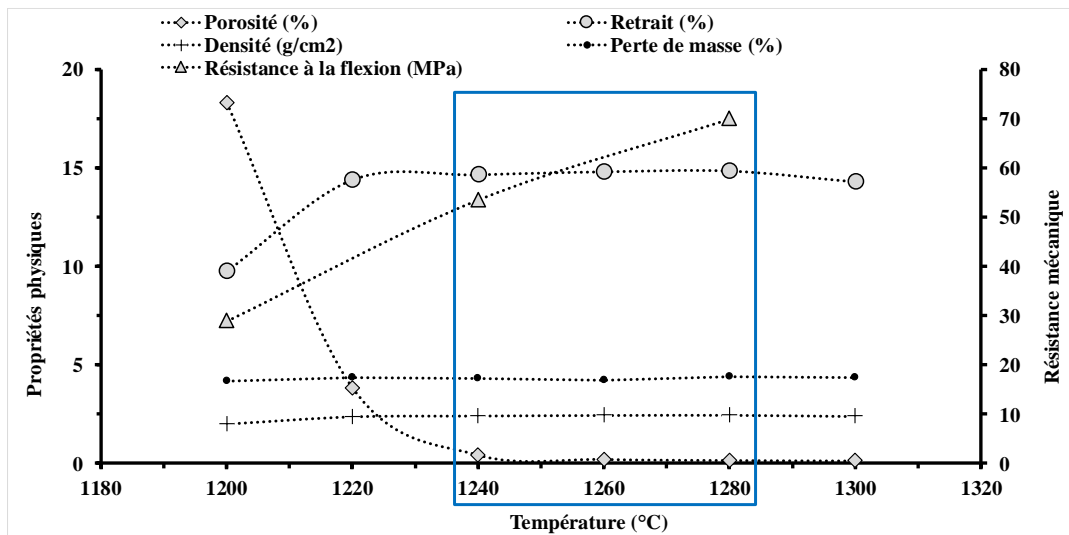


Figure 8: Détermination de la température idéale de cuisson pour le grade F2

5. Conclusion

Les porcelaines obtenues avec différents teneurs en matières premières présentent des propriétés physico-chimiques et minéralogiques variées. Ces propriétés sont liées non seulement à la nature, à la taille des grains et aux proportions de matières premières utilisées, mais aussi à la température de cuisson. Différents résultats ont montré que les éprouvettes de porcelaine constituées de 50 à 65 % d'argiles kaolinitiques de Nongfairé, de 25 à 20 % de pegmatite de Kotédougou et de 25 à 15 % de sable de Bobo et frittées entre 1240 et 1280 °C présentent des caractéristiques conformes à celles de la littérature. Le rôle des cations Na et K, est de diminuer la température de fusion du produit et de favoriser la fusion des autres minéraux présents dans la formulation. Ces résultats indiquent que les taux des flux seuls ne doivent pas être utilisés comme argument pour expliquer l'évolution des paramètres dans l'optimisation des teneurs. Mais il faut tenir compte des proportions des tailles des grains des poudres de matières premières ainsi que de toutes les sources pouvant contribuer à la formation de phases vitreuses. La nuance de 55% d'argile kaolinitique, 25% de pegmatite et 20% de sable a été retenue comme teneur optimale pour l'élaboration des porcelaines avec une température optimale de 1240 °C.

Références

- [1] Suat Yilmaz and Z. Engin Erkmen. Creep of Hard Porcelain during Firing. American Ceramic Society Bulletin. 86(8). 2007.
- [2] Carty W M, and Senapati U. Porcelain-Raw Materials, Processing, Phase Evolution and Mechanical Behavior. J. Am. Ceram. Soc., 1998; 81(1): 3 - 20. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1151-2916.1998.tb02290.x>
- [3] Youssef Sawadogo, Lamine Zerbo, Moustapha Sawadogo, Mohamed Seynou, Moussa Gomina, Philippe Blanchart; Characterization and use of raw materials from Burkina Faso in porcelain formulations. Results in Materials. 6-100085. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.rinma.2020.100085>
- [4] Carty W M. Rheology and plasticity for ceramic processing. In: Smith J. and Bennett J. editors. Fundamentals of Refractory Technology. American Ceramic Society, Westerville, OH, p. 29-52. 2001. <http://dx.doi.org/10.1002/9781118370940.ch2>.
- [5] Mostari Mst S, and Haque Md J. Recycling of post sintered sanitaryware waste in its formulation. Int. J. Tech. Res. Sci., 2020; 5(8): 2454-2024. <http://dx.doi.org/10.30780/IJTRS.V05.I08.004>
- [6] Martin-Marquez J, Rincon J Ma, and Romero M. Effect of firing temperature on sintering of porcelain stoneware tiles. Ceram. Int., 2008; 34(8):1867-1873. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ceramint.2007.06.006>
- [7] Norme ISO 10545-3. Détermination de l'absorption d'eau, de la porosité ouverte, de la densité relative apparente et de la masse volumique globale. 1995.
- [8] ISO 10545-13. Ceramic tiles, determination of chemical resistance. 2015.

- [9] Seynou M, Flament P, Sawadogo M, Tirlocq J, and Ouedraogo R. Refractory bricks based on Tikaré (Burkina Faso) kaolinitic raw clay material. *J. Soc. Ouest-Afr. Chim.*, 2013 ; 035 : 49 - 56. ISSN 0796-6687
- [10] L. Zerbo, M. Seynou, B. Sorgho, G. Lecomte-Nana, M. Gomina, P. Blanchart, Microstructure and Weibull distribution of rupture strength of clay-talc ceramics, *Cerâmica* 65 (2019) 240–245. <http://dx.doi.org/10.1590/0366-6913201965374251810>.
- [11] Abdullaeva, M., Murzubraimov, B., Altybaeva, D., Abdullaeva, Z., Kalykova, G., Suiunbekova, A. and Osmonova, A. Investigation of Pegmatite Mineral Applicability from the Terek Ceramic Deposit in Kyrgyzstan for Production of Porcelain and Earthenware. *Journal of Minerals and Materials Characterization and Engineering*, 9, 169-179. (2021) <https://doi.org/10.4236/jmmce.2021.92012>
- [12] John D. Yates and Stephen J. Lombardo. Strain Mismatch and Deformation of Slip Cast Alumina Bodies: The Effects of Solids loading, Dispersant Concentration, and Binder Concentration. *Ceram. Eng. Sci. Proc.*, 23 [2], 1-14. 2002.
- [13] Zanelli C, Raimondo M, Guarini G, and Dondi M. The vitreous phase of porcelain stoneware : composition, evolution during sintering and physical properties. *J. Non-Cryst. Solids*, 2011; 357(16-17): 3251-3260. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2011.05.020>
- [14] Wimuktiwan P, Rodchom M, Soongprasit K, Atong D, and Vichaphund S. Influence of the addition of pore foaming agent on mechanical and thermal properties of porcelain tiles ; *Ceram.-Silik.* 2020; 64 (2), 164-171. <http://dx.doi.org/10.13168/cs.2020.0005>
- [15] Kamseu E, Leonelli C, Boccaccini D. N. et al. Characterisation of porcelain compositions using two china clays from Cameroon. *Ceram. Int.*, 2007; 33(5): 851–857. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ceramint.2006.01.025>
- [16] Mustafi S, Ahsan M, and Dewan A. H. Effect of Particle Size of Quartz on Bending Strength of Porcelain. *Bangladesh J. Sci. Ind. Res.* 2008; 43(4): 537-544. <http://dx.doi.org/10.3329/bjsir.v43i4.2244>

Evaluation de la réactivité de quatre types de terres argileuses pour la production des Briques en Terre Comprimées stabilisées à la chaux (analytique et sous-produit) : Propriétés physico-mécaniques

Seick Omar SORE^{1,2}, **Tarmangué DIME**², **Philbert NSHIMIYIMANA**², **Adamah MESSAN**²,
Luc COURARD³

¹ *Laboratoire de Chimie et Energies Renouvelables (LaCER), Unité de recherche en Physico-Chimie et Technologie des Matériaux, Université Nazi BONI, B.P. 1091 Bobo 01, Burkina Faso*

² *Laboratoire Eco-Matériaux et Habitats Durables (LEMHaD), Institut International d'Ingénierie de l'Eau et de l'Environnement (Institut 2iE), Rue de la Science, Ouagadougou, Burkina Faso*

³ *Urban and Environmental Engineering (UUE), Université de Liège (ULiège), Liège, Belgique*

Email: seickomar9@yahoo.fr

Résumé

Cette étude évalue la réactivité de quatre (04) types de terre argileuse (Kamboinsé, Pabré, Saaba et Kossodo), disponible dans les alentours de Ouagadougou, avec la chaux analytique : $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (CA) et un résidu de chaux (CR) : riche en $\text{Ca}(\text{OH})_2$ dans des conditions ambiantes. L'effet de la stabilisation de la terre avec la chaux de type CR a également été étudié sur les performances des Blocs de Terre Comprimée (BTC). La teneur en chaux variait de 0 % à 20 % par rapport à la masse de terre sèche. L'analyse de la réactivité et des propriétés physico-mécaniques a été réalisée respectivement sur les solutions des mélanges (terre + CR et terre + CA) et sur les BTC (terre + CR). Les composites élaborés ont subi une cure de 0 à 60 jours à température ambiante du laboratoire ($30^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$). Les résultats ont montré que la réactivité des matériaux argileux avec CA est comparable à celle avec le CR. Dans le même temps, cette réactivité a amélioré les propriétés physiques et mécaniques du BTC stabilisé en fonction du type de terre, de la teneur en chaux et du temps de cure. Les valeurs maximales de la résistance à la compression sèche observées pour chaque matériau stabilisé à 20% de CR sont de 6 et 7 MPa (Kamboinsé), 8,8 et 9,3 MPa (Pabré), 6 et 6,5 MPa (Saaba), 8,8 et 9,7 MPa (Kossodo) respectivement sous cure de 28 et 45 jours. L'efficacité structurelle des BTC a également été améliorée, ce qui implique que dans les conditions actuelles, la stabilisation des matériaux argileux avec CR permet de produire les BTC pour des applications potentielles dans la maçonnerie des bâtiments.

Mots clés : *Terre argileuse, BTC, chaux analytique, résidu de chaux, propriétés physiques, propriétés mécaniques*

Reactivity of four types of clay earthen materials for the production of compressed earth blocks stabilized with lime (analytical and by-product lime): Physico-mechanical properties

Abstract

This study assesses the reactivity of four (04) different types of clayey earthen materials (Kamboinsé, Pabré, Saaba, and Kossodo), located in the vicinity of Ouagadougou, with analytical lime (CA): $\text{Ca}(\text{OH})_2$ and lime residu (CR) : rich in $\text{Ca}(\text{OH})_2$ in ambient conditions. The effect of the stabilization of the earth with the CR was also studied on the performances of compressed earth blocks (CEB). The lime content varied from 0% to 20% with respect to the mass of dry earthen material. The analysis of the reactivity and physico-mechanical properties were respectively carried out on the solutions of the mixtures (earth + CR and earth + CA) and CEB (earth + CR). The mixtures were cured between 0 and 60 days at the ambient temperature of laboratory ($30^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$). The results showed that the reactivity of the clayey earthen materials with CA is comparable to that with the CR. At the same time, this reactivity improved the physical and mechanical properties of stabilized CEB depending on the type of earth material, lime content and curing time. The maximum values of the dry compressive strength, observed for each material stabilized with 20% CR, are 6 and 7 MPa (Kamboinsé), 8.8 and 9.3 MPa (Pabré), 6 and 6.5 MPa (Saaba), 8.8 and 9.7 MPa (Kossodo) respectively at curing time of 28 and 45 days. The structural efficiency of CEB was also improved which implies that, in the current conditions, the stabilization of earth materials using CR allows to produce the CEB for potential applications in wall masonry.

Keywords : *Clayey Earth, Compressed Earth Brick (CEB), Analytical Lime, Lime Residu, Physical properties, Mechanical Properties*

INTRODUCTION

Le matériau terre connaît ces dernières années une valorisation assez importante pour son utilisation dans le domaine de l'habitat [1 ; 2]. Il présente de multiples avantages pour la construction des logements durables. Des études antérieures ont été menées pour une stabilisation de ce matériau en utilisant des liants comme le ciment, la chaux, les cendres de balles de riz et le géopolymère [3 ; 4 ; 5].

Les récentes études se sont essentiellement intéressées à la stabilisation des BTC par un résidu de chaux (CR), un sous-produit de rejet issu de la fabrication de l'acétylène et riche en Ca(OH)_2 qui s'est avéré un agent de stabilisation bénéfique en remplacement du ciment [3 ; 4]. L'effet de stabilisation de la chaux est aussi remarquable à cause d'une réaction qu'elle a avec la terre argileuse (réaction pouzzolanique). L'usage de la chaux peut permettre d'améliorer les propriétés physiques, mécaniques et thermiques des BTC produites avec la terre argileuse réactive. Elle a peu d'effet sur les terres moins riches en argile [2 ; 5]. Le résidu de chaux est donc efficace et peut être source d'amélioration des performances des BTC et comparable à la stabilisation au ciment pour la production des BTC.

La sélection du type de terre pour la production des BTC se fait essentiellement en considérant la plasticité et la granulométrie de la terre. Néanmoins, les récentes études ont montré qu'il est important de tenir compte de la réactivité de la terre en vue d'une utilisation appropriée dans la production des BTC stabilisée avec les liants chimiques [4].

La présente étude évalue la réactivité des différents matériaux argileux avec la chaux (chaux analytique - CA contre chaux résidu - CR) ; l'influence de l'ajout de la chaux résiduelle ($<400\mu\text{m}$) sur les performances physico-mécaniques des BTC sous une cure à la température ambiante du laboratoire ($30 \pm 5^\circ\text{C}$). En plus, la présente étude permet d'établir une corrélation entre la résistance à la compression et la résistance à l'abrasion des BTC produites avec les différents types de terre argileuse. Ceci avait pour but de confirmer la possibilité d'établir un test non-destructif pour l'évaluation des performances mécaniques des BTC.

2 Matériaux et méthodes expérimentales

2.1 Matériaux de base

Quatre différents types de matériaux argileux ont été échantillonnés dans des carrières situées les périphéries de Ouagadougou (Burkina Faso) : Kamboinsé (K), Pabré (P), Saaba (S) et Kossodo (Ko). Deux différents types de chaux sont utilisées comme stabilisant dans cette étude, une chaux analytique (CA) et une chaux résiduelle (CR).

Les caractéristiques physiques, géotechniques et chimiques de ces matériaux (argiles et chaux) ont déjà fait l'objet d'études antérieures [1 ; 6] et sont résumés dans les tableaux 1 et 2. Les matériaux de Kamboinsé contiennent 60 % de kaolinite, 20 % de quartz ; Pabré contient 30% de kaolinite, 55% de quartz; Kossodo contient 40 % de kaolinite, 30 % de quartz ; et Saaba contient 70% de kaolinite, 20% de quartz. Ces matériaux argileux contiennent également des traces de goethite, d'hématite et de feldspath potassique. Le résidu de chaux (CR) contient environ 50 % de portlandite (Ca(OH)_2) et de carbonates, tandis que la chaux analytique (CA) contient principalement du Ca(OH)_2 .

Tableau 1: Compositions chimiques des matériaux de base [1, 6]

Méthodes	Argiles					Chaux	
	Oxydes	Kamboinsé	Pabre	Kossodo	Saaba	CR	CA
Fluorescences aux Rayons X (FRX)	SiO ₂	63,70	76,90	55,00	60,90	4,74	0,10
	Al ₂ O ₃	23,30	11,70	23,40	27,60	1,66	0,10
	Fe ₂ O ₃	2,30	3,80	8,10	0,60	0,67	0,10
	CaO	0,10	0,20	0,10	0,10	66,27	71,70
	TiO ₂	0,50	0,90	1,20	0,00	0,04	0,00
	MnO	0,00	0,10	0,00	0,00	0,00	0,00
	MgO	0,00	0,00	0,00	0,00	0,30	0,40
	Na ₂ O	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	K ₂ O	0,30	0,80	2,30	0,10	0,07	0,00
P ₂ O ₅	0,00	0,00	0,10	0,00	0,03	0,00	
Perte au feu (2 h à 1000°C)	POF	9,70	5,70	9,80	10,60	26,22	27,70
Total Oxydes		100	100	100	100	100,00	100,00
SiO ₂ /Al ₂ O ₃		2,70	6,60	2,40	2,20	2,2	
SiO ₂ + Al ₂ O ₃ + Fe ₂ O ₃		89,30	92,40	86,50	89,10	89,1	/

Tableau 2 : Caractéristiques physiques et géotechniques des argiles [6]

Caractérisation		Argiles				
Essais	Normes	Oxydes	Kamboinsé	Pabre	Kossodo	Saaba
Analyse granulométrique par tamisage	NF P 18 - 560	Gravier (%)	10	5	40	10
		sable (%)	30	20	35	45
		Limon (%)	40	50	15	25
		Argile (%)	20	25	10	20
Limites d'Atterberg	NF P 94 - 051	LL (%)	50	35	40	50
		LP (%)	30	15	25	35
		IP (%)	20	20	15	15
Densité spécifique	NF EN 1097- 6	ρ _s	2,7	2,6	2,9	2,6
Proctor Normal	NF P 94-093	TEO (%)	17	16	13	18
		Densité (kg/m ³)	1800	1805	2036	1646

2.2 Formulation des solutions et évaluation de la réactivité des argiles

Cet essai consiste à évaluer l'évolution de la réaction entre la terre et la chaux (CR et CA). Ceci permettrait de comparer l'effet réactionnel du CA avec celle de CR sur la terre. Pour cela, des solutions témoins contenant uniquement de l'eau distillée (100g), 1 g et 2 g de CR ou de CA ont été produites en premier lieu. Par la suite, pour chaque matériau, il s'agissait de prélever une quantité connue de terre (10g) à laquelle on a ajouté des quantités équivalentes à 10% et 20% respectivement 1g et 2g des différents liants qui sont le CR ou le CA. Ces quantités de matériau prélevées sont des passants au tamis de 400µm. On a ajouté ensuite de l'eau distillée (100g pour chaque mélange). Le mélange est

bien malaxé pour permettre une homogénéisation parfaite avant toute prise de mesure de la conductivité électrique à l'aide d'un appareil de mesure multiparamétrique MU 6100 L équipé d'un électrode CO 11 de conductivité électrique et pH (Figure 1). Après lecture de la valeur, le mélange est très bien conservé à la température ambiante ($30 \pm 5^\circ\text{C}$) pour les prochaines mesures à 3, 7, 14, 28, 45 et 60 jours.

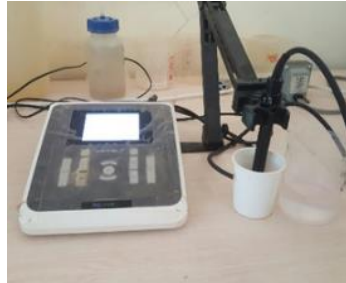


Figure 1 : Appareil de mesure de la conductivité électrique des solutions de mélange

2.3 Production et évaluation des propriétés physico-mécaniques des BTC

Plusieurs mélanges des différents types de terre et le résidu de chaux ($\text{CR} < 400 \mu\text{m}$) à de pourcentage de 0%, 10% et 20% ont été utilisées pour produire les BTC afin de déterminer leurs propriétés d'usage. Pour chaque terre ou mélange entre terre et chaux, une quantité appropriée d'eau a été ajoutée pour produire des mélanges humides. La teneur en eau a été déterminée par compactage statique et en tenant compte de la demande en eau de 0 % à 20 % de CR. La teneur en eau était de 17 à 22 % (K), de 16 à 20 % (P), de 13 à 17 % (Ko) et de 18 à 22 % (S). La quantité appropriée de matériaux humides a été comprimée dans un moule prismatique ($295 \times 140 \times 95 \text{ mm}^3$) en utilisant une presse manuelle de BTC de marque Terstaram dont la pression de compactage est estimée à 15 bars. Les BTC ont été conservées dans des sacs en polyéthylène afin de retenir l'humidité et de faciliter la réaction entre la chaux et la terre (Figure 2). Le durcissement a été réalisé en laboratoire à température ambiante ($30^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$) pendant 28 et 45 jours.



Figure 2: Condition de cure des BTC à température ambiante du laboratoire ($30^\circ\text{C} \pm 5$)

Après maturation, les BTC ont été séchées à $40 \pm 2^\circ\text{C}$ jusqu'à masse constante avant d'être soumises à des tests de caractérisation de leurs performances (densité apparente, la résistance à l'abrasion et la résistance à la compression en conditions sèches). La densité apparente a été déterminée à travers le rapport de la masse de l'échantillon de BTC sèche et de son volume géométrique. Le coefficient d'abrasion a été déterminé par le rapport de la surface abrasée et de la perte de masse. L'abrasion a été réalisée à l'aide d'une brosse métallique chargée de 3 kg sur la surface de l'échantillon ($2,5 \times 29,5 \text{ cm}^2$) soumise à 60 cycles d'abrasion. La figure 3 présente

le dispositif expérimental mis en place pour l'essai d'abrasion. La résistance à la compression a été testée sur l'empilement de deux moitiés de BTC, en conditions sèches et humides (après immersion dans l'eau pendant 2 h) à l'aide d'une presse hydraulique de marque Proeti, équipée d'une cellule de charge de capacité 300 kN à une vitesse de chargement de 0,2 mm/ s.

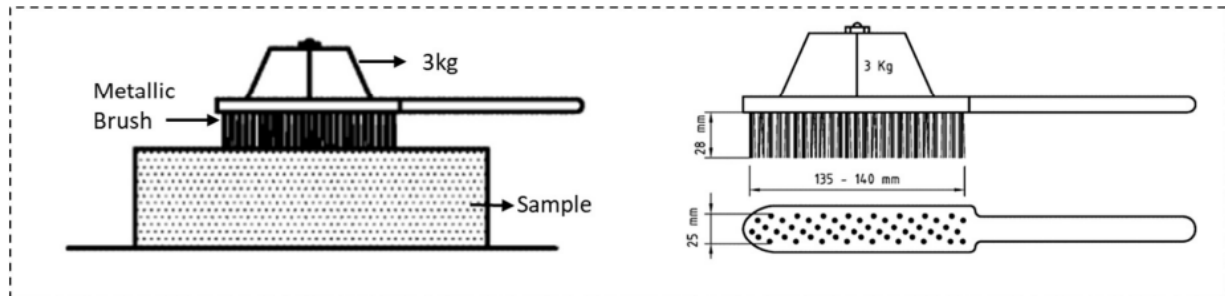


Figure 3 : Dispositif expérimental

3 Résultats et discussions

3.1 Réactivités des argiles en présence de chaux

Cette étude a permis d'évaluer la réactivité des terres argileuses dans les conditions ambiantes de cure. Elle a été obtenue en mesurant la conductivité électrique (CE) des solutions de mélanges de différentes terres et chaux (figure 4 et 5). De manière générale, une diminution de la valeur de CE a été constatée en fonction du temps pour tous les mélanges contenant une terre argileuse et 10 ou 20 % de chaux (CR ou CA). Au cours des trois premiers jours, il n'y a eu aucun changement significatif des CE des solutions. C'est donc à partir du 7^{ème} jour qu'une diminution de CE a été observée dans les solutions contenant de la terre et de la chaux (CR ou CA). La diminution de CE est liée à la réaction entre la terre et la chaux, qui se traduit par la consommation de Ca^{2+} et OH^- initialement issus de la dissolution de la chaux ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) [4]. L'évolution de CE des solutions contenant la chaux CR est comparable à celle de CA. Ceci permet de confirmer que la réaction entre la terre et CR est comparable à celle avec CA.

Lorsque la réaction commence, les solutions contenant CA ont un CE légèrement plus élevé que les solutions contenant CR. Cela peut être lié au fait que CA contient plus de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ que le CR. La diminution de la CE se poursuit jusqu'au 60^{ème} jour, avec une cinétique plus remarquable entre le 28^{ème} et le 45^{ème} jour. Cependant, les solutions témoins (eau distillée et chaux) n'ont subi aucun changement significatif de CE jusqu'au 60^{ème} jour de maturation. Ceci explique l'absence d'interaction entre l'eau distillée et la chaux, mais confirme plutôt l'interaction entre la terre et la chaux à travers la réaction pouzzolanique [3].

D'une part, à 28 jours de cure, pour les solutions contenant 10 % de CR, la valeur de CE atteint 5 mS/cm (pour P, Ko), 5,5 mS/cm (K) et 6 mS/cm (S). D'autre part, la valeur de CE était de 5,5 mS/cm (P, Ko) et 6 mS/cm (K, S) pour les solutions contenant 10 % de CA. Ces valeurs de CE diminuaient progressivement jusqu'à atteindre la valeur de 2 à 2,5 mS/cm après 45 jours, puis la valeur de 1 à 2 mS/cm après 60 jours. Pour les solutions contenant 20% de chaux, une évolution similaire a été observée, mais avec des valeurs de CE légèrement plus élevées qu'avec 10% de chaux.

Les valeurs de CE des solutions contenant de CA sont légèrement supérieures à celles contenant CR en raison d'une teneur plus élevée en $\text{Ca}(\text{OH})_2$, responsable de la réaction, dans CA que dans CR. Néanmoins, le CE évolue de manière similaire pour les solutions contenant CA ou CR. Ainsi, cela

permet de confirmer que la réactivité du CR est comparable à celle de CA et permettrait d'évaluer la réactivité des matériaux argileux.

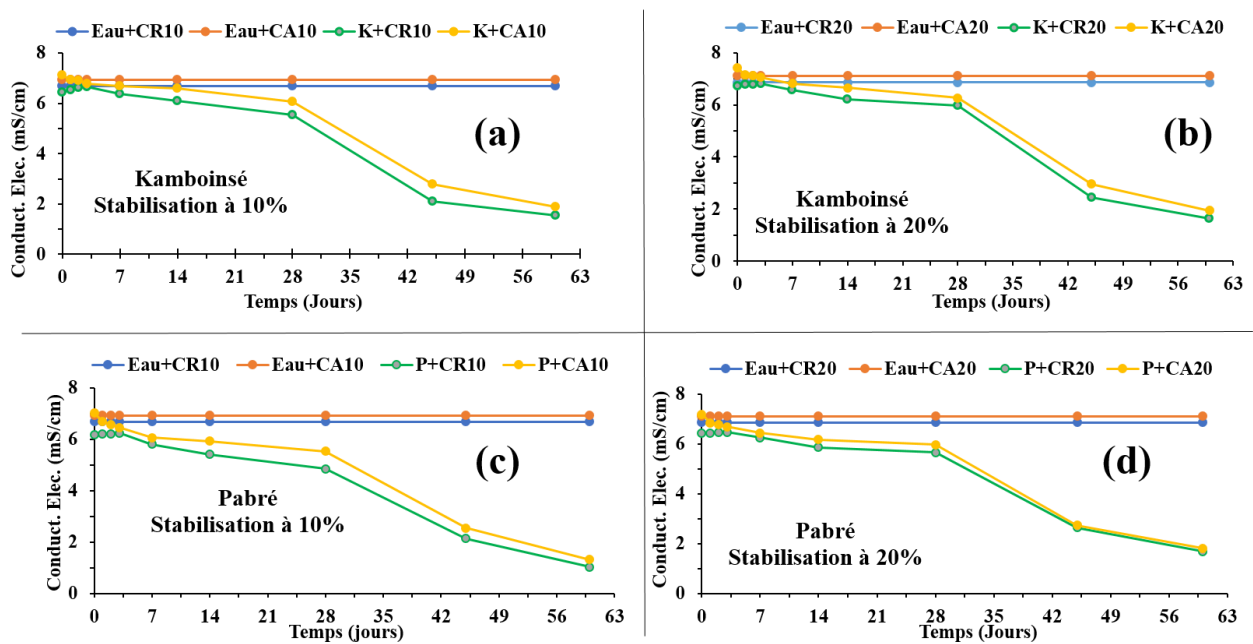


Figure 3 : Evolution de la conductivité électrique des solutions contenant de la terre de Kamboinsé (a et b) et de Pabré (c et d)

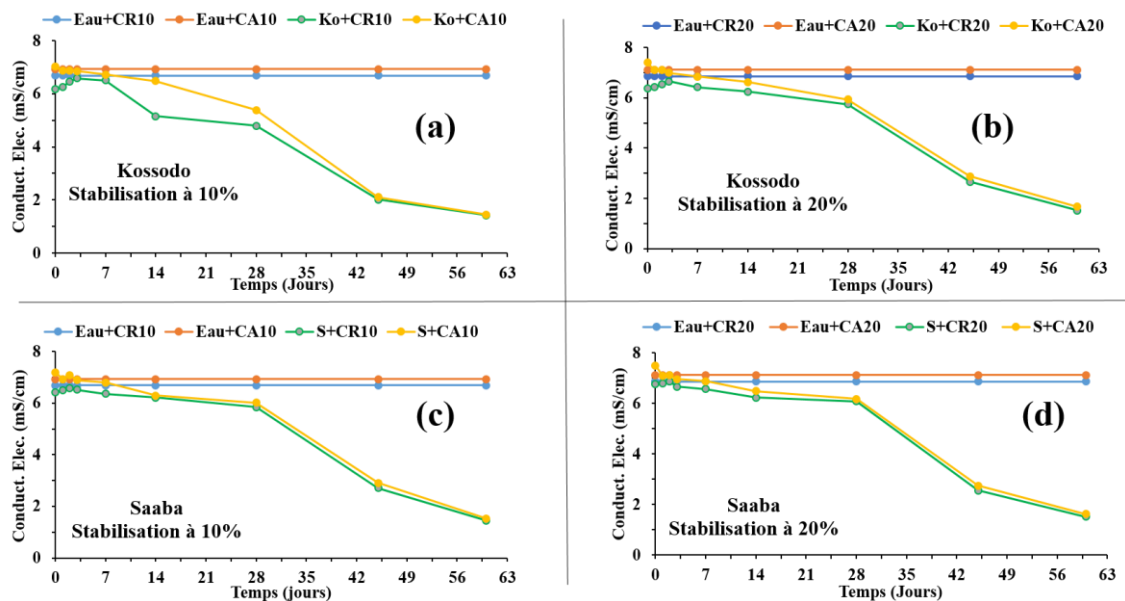


Figure 4 : Evolution de la conductivité électrique des solutions contenant de la terre de Kossodo (a et b) et de Saaba (c et d)

3.2 Propriétés physico-mécaniques des BTC

3.2.1 Densité apparente

Une légère diminution des densités apparentes des BTC a été observée avec l'ajout progressif de CR quel que soit le temps de cure (28 et 45 jours) comme le montre la figure 6. A titre d'exemple, la densité passe d'une valeur de 1494 à 1445 Kg/m³ pour K; de 1873 à 1818 Kg/m³ pour P ; de 1825 à 1757 Kg/m³ pour Ko et de 1471 à 1438 Kg/m³ pour Sa. Cette diminution de la densité s'explique en partie par l'augmentation de la demande en eau de production avec l'ajout de CR. Elle peut également être liée à la faible densité de la chaux par rapport à celle du matériau terre. Les valeurs de densité les plus faibles sont observées pour les matériaux de Kamboinsé et Saaba qui ont nécessité une plus grande quantité d'eau que les autres matériaux pendant la production des BTC.

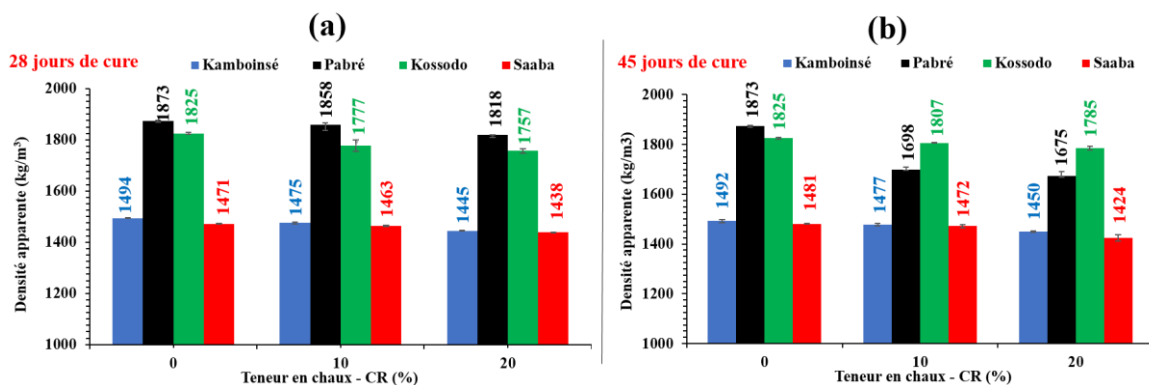


Figure 5 : Densité apparente des BTC sous une cure de 28 jours (a) et 45 jours (b)

3.2.2 Résistance à l'abrasion des BTC

La figure 7 montre les valeurs des coefficients d'abrasion des BTC en fonction de la teneur en CR. Les BTC non stabilisées ont montré leur grande sensibilité à l'abrasion, avec les plus faibles coefficients d'abrasion (Cb) de 1 ; 9; 2 et 1 cm²/g respectivement pour K, P, Sa et Ko. Selon la norme XP P13-901 [7] qui stipule que les valeurs minimales de Cb doivent être respectivement de 2, 5 et 7 cm²/g pour les différentes classes de BTC (BTC20, BTC40 et BTC60), seules les BTC sans stabilisant avec l'argile de Pabré ont un coefficient leur permettant de répondre aux exigences de la norme et être classées de type BTC60.

Pour les BTC stabilisées (10 et 20% de CR) et sous une cure de 28 jours, la résistance à l'abrasion s'est progressivement améliorée avec l'ajout du liant jusqu'à atteindre les valeurs de 18, 37, 28 et 13 cm²/g (10% de CR) et 40, 45, 69, et 30 cm²/g (20% de CR) respectivement pour K, P, Ko et S (Figure 7a). Pour une cure à 45 jours, les coefficients d'abrasion atteignent respectivement les valeurs de 21, 49, 31 et 21 cm²/g (10% CR) et 49, 66, 88 et 43 cm²/g (20% CR) pour K, P, Ko et S (Figure 7b). Cette augmentation de la résistance à l'abrasion peut être liée à la réaction pouzzolanique entre les matériaux argileux et la chaux, qui se traduit par un effet de durcissement de la surface des BTC.

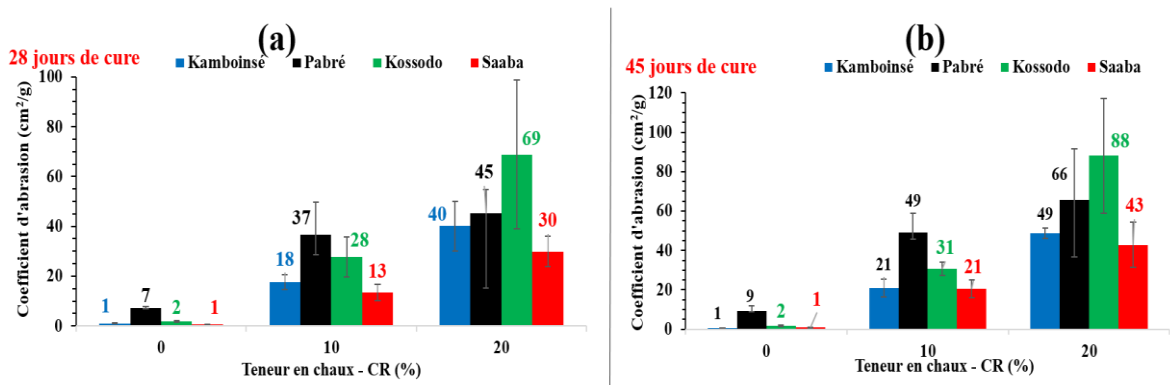


Figure 6 : Coefficient d'abrasion des BTC sous une cure de 28 jours (a) et 45 jours (b)

3.2.3 Résistance à la compression sèche des BTC

La comparaison entre les BTC non stabilisées et celles stabilisées présentée sur la figure 8 a montré une augmentation de la résistance à la compression de ces matériaux en fonction de la teneur en chaux (10 et 20% de CR) et également en fonction du temps de cure. Pour une même teneur en CR, les résistances à la compression des BTC à 45 jours sont légèrement supérieures à celles obtenues à 28 jours. Elles étaient respectivement de 0,4 ; 2,6 ; 1 et 0,6 MPa pour les BTC non stabilisées pour les argiles de K, P, Ko et S. Cependant, avec une addition de 10 à 20% de CR on a observé une augmentation de ce paramètre mécanique qui est de l'ordre de 5 à 5,9 MPa pour K ; 7,9 à 8,8 MPa pour P ; 7,7 à 8,8 MPa pour Ko et 5 à 6 MPa pour S pour une cure de 28 jours (Figure 8.a). La figure 8.b qui présente la variation des résistances sous une cure de 45 jours, a montré également une tendance similaire notamment une augmentation des résistances des BTC par rapport à celles à 28 jours. Cette augmentation est de 16 fois (0,4 à 7 MPa) pour K, 3 fois (2,5 à 9,3 MPa) pour P, 9 fois (1,1 à 9,9 MPa) pour Ko et 10 fois (0,6 à 6,5 MPa) pour S.

Cette amélioration de la résistance est due à la réactivité des différents matériaux argileux avec la chaux CR [6]. Ces résultats confirment la réactivité pouzzolanique observée avec les solutions de mélange des différents matériaux argileux en présence de chaux. Cette réaction conduit à la formation de produits cimentaires, tels que les hydrates de silicates de calcium et les aluminates de calcium, responsables de l'augmentation de la résistance à la compression des BTC stabilisées [3].

L'augmentation de la résistance à la compression observée dans la présente étude est aussi comparable à celle précédemment obtenue sur les BTC stabilisées avec la chaux (CR) dont la granulométrie était inférieure à 125 μm [4]. Cela implique que la chaux (CR) avec une granulométrie supérieure à 125 μm et inférieure à 400 μm peut être aussi utilisée comme liant pour l'amélioration des propriétés mécaniques des BTC. En effet, l'utilisation de cette finesse de CR a conduit à une résistance à la compression des BTC qui dépasse la valeur de 4 MPa (10% de CR et à 28 jours de cure) et même 6 MPa (20% de CR à 45 jours), recommandée pour la construction en terre des bâtiments à étages [8].

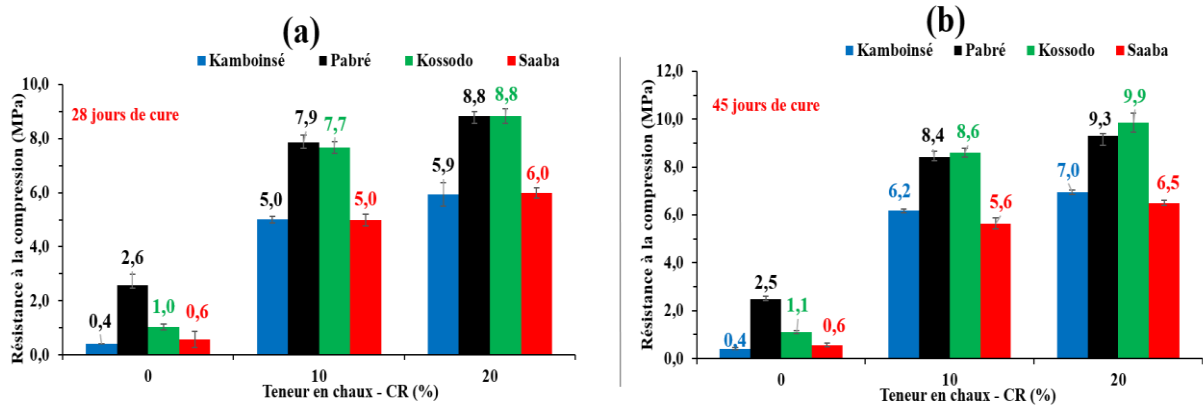


Figure 7 : Résistance à la compression des BTC sous une cure de 28 jours (a) et de 45 jours (b)

3.3 Corrélation entre le coefficient d'abrasion et la résistance à la compression

Il existe une possibilité de corrélation entre la résistance à la compression et le coefficient d'abrasion. L'importance de cette corrélation est de pouvoir estimer la résistance à la compression des BTC à partir du coefficient de résistance à l'abrasion. Le coefficient d'abrasion est plus facile à évaluer, sans écraser l'échantillon, par des moyens simples et moins coûteux ; tandis qu'il est plus difficile de tester la résistance à la compression qui nécessite un équipement plus sophistiqué, coûteux et destructeur.

La Figure 9 (a et b) montre les relations entre le coefficient d'abrasion (C_b) et la résistance à la compression (R_c) des BTC respectivement sous une cure de 28 et 45 jours. Ceci permet de proposer une relation approchée pour corréler les deux propriétés pour chaque type de terre étudiée en fonction du temps de cure. On a ainsi obtenu une relation générale à deux paramètres (A et B) exprimée par l'équation 1.

$$R_c = A * C_b^B \quad (eq.1)$$

Dans cette équation, A varie de 0,69 à 0,84 (0,55 à 0,85) et B varie de 0,59 à 0,67 (0,59 à 0,70) pour les BTC ayant subies une cure de 28 jours (45 jours). La figure 9.c montre la corrélation moyenne ($R_c = 0,71 * C_b^{0,64}$) entre le coefficient d'abrasion et la résistance en compression pour les quatre types de matériaux argileux, stabilisés avec les différentes teneurs en CR et sous les deux types de temps de cure (28 et 45 jours).

Les coefficients de régression très élevés ($R^2 = 0,92$ à $0,99$) est la preuve de l'existence d'une forte corrélation entre les deux propriétés (R_c et C_b) des BTC. Cependant, bien que cette corrélation dépende fortement de la nature des matériaux, en termes des variables A et B, elle permet néanmoins, d'estimer la résistance à la compression en fonction de la résistance à l'abrasion.

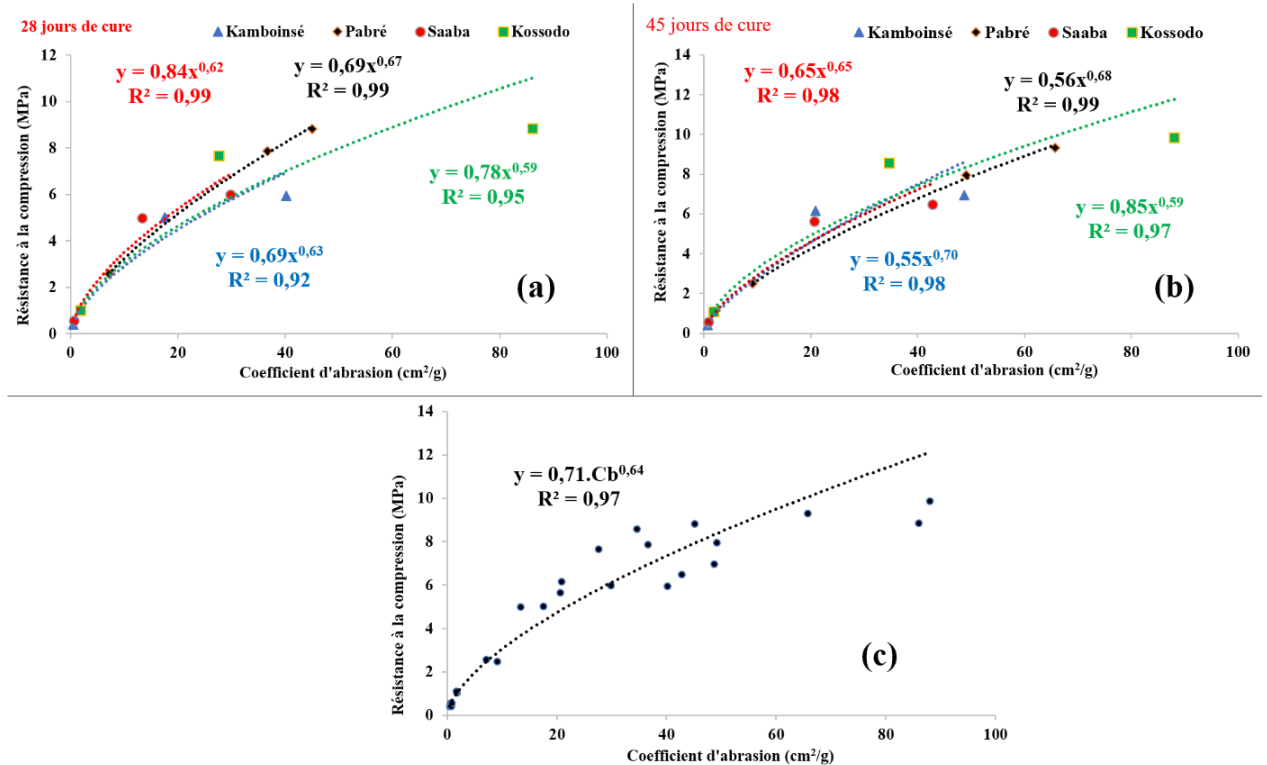


Figure 8 : Corrélation entre la résistance à la compression et le coefficient d'abrasion des BTC sous une cure de 28 (a) et 48 (b) jours

3.4 Performances structurelles des BTC

La performance structurelle des BTC a été évaluée à travers un coefficient d'efficacité structurelle (CES). Le CES est un paramètre physico-mécanique important dans l'évaluation de la contribution de la résistance et de la densité des BTC à la capacité portante dans la construction de bâtiments. Le CES est déterminé par le rapport entre la résistance à la compression sèche et la densité apparente des BTC [10]. Ce paramètre permet d'évaluer l'amélioration de la capacité des BTC à supporter la charge dans la construction en maximisant sa résistance mécanique tout en minimisant son propre poids (densité apparente). On note que l'utilisation de la chaux CR comme stabilisant a significativement amélioré le CES.

Les valeurs du CES des BTC non stabilisées (0% de CR) étaient de 274, 1372, 564 et 387 J/kg respectivement pour les matériaux de K, P, Ko et S. Ces valeurs sont respectivement passées de 3397 à 4111 J/kg, de 4237 à 4851 J/kg, de 4310 à 5033 J/kg et de 3403 à 4166 J/kg pour les BTC stabilisées avec 10 et 20% sous une cure de 28 jours (Figure 10a). Quant aux BTC stabilisées sous une cure de 45 jours (Figure 10b), leurs CES ont augmenté de 14 à 16 fois, 3 à 3 fois, 7 à 9 fois, et 9 à 11 fois respectivement pour les BTC stabilisée avec 10 à 20% par rapport aux BTC non stabilisées. Cette augmentation du CES implique que les BTC stabilisées avec une teneur de CR plus élevée (20%) peuvent supporter relativement plus de charges que celle stabilisées à 10% de CR.

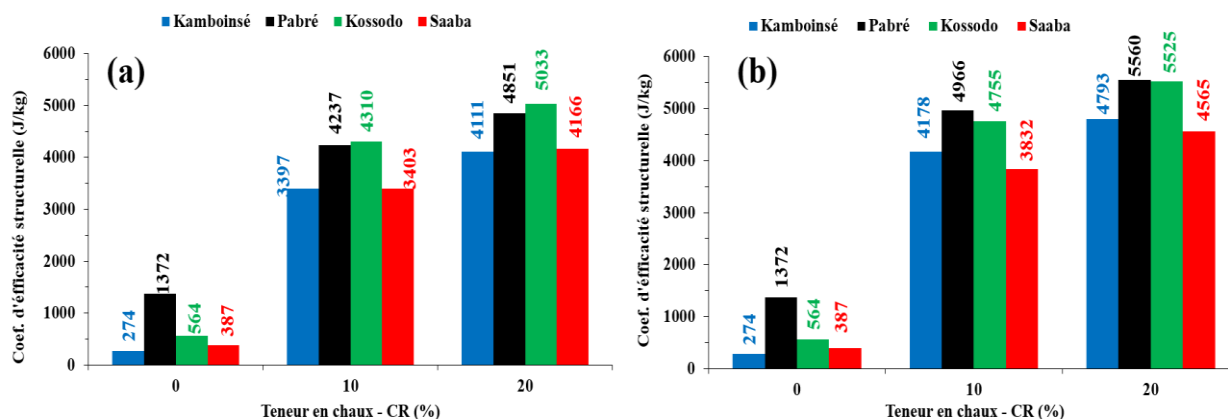


Figure 9 : Coefficient d'efficacité structurelle des BTC sous une cure de 28 (a) et 45 (b) jours

4. conclusion

Les résultats présentés dans cet article s'inscrivent dans le cadre de la valorisation des sous-produits disponibles localement au Burkina Faso, plus précisément le résidu de chaux utilisé à une finesse plus grossière (<400 μm). L'étude visait à déterminer la réactivité des matériaux argileux avec la chaux analytique (CA) afin de la comparer à celle obtenue avec la chaux résiduelle (CR). L'étude a également évalué l'influence de l'ajout de CR sur les performances physico-mécaniques des BTC. A l'issue des différents résultats, les conclusions suivantes sont adoptées :

- ✓ La consommation de la chaux résiduelle (CR) par les différents matériaux argileux est comparable à celle de la chaux analytique (CA) entraînant une diminution de la conductivité électrique des solutions lors de la cure. Cela confirme la réactivité de ces matériaux argileux avec CR dans des conditions ambiantes de durcissement.
- ✓ La densité des BTC diminue avec l'augmentation de la teneur en chaux de l'ordre de 1495 à 1420 kg/m³ pour les matériaux de Kamboinsé et Saaba et de 1875 à 1750 kg/m³ pour Pabré et Kossodo.
- ✓ Le coefficient d'abrasion des BTC augmente avec l'ajout du stabilisant (20% de CR), de l'ordre de 0,5 à 40 cm²/g pour Saaba et Kamboinsé et de 1,9 à 88 cm²/g pour Pabré et Kossodo. Il est légèrement supérieur pour les BTC durcies à 45 jours par rapport à celles durcies à 28 jours.
- ✓ La résistance à la compression des BTC augmente avec l'ajout de CR (20 %), dans un intervalle de 0,5 à 7 MPa pour Kamboinsé et Saaba et de 1 à 10 MPa pour Pabré et Kossodo. Elle est légèrement plus élevée pour les BTC durcies à 45 jours que celles à 28 jours. Ceci prouve une amélioration de la résistance des BTC, résultant de la réactivité observée. Les BTC stabilisées avec le liant CR sont potentiellement utilisables pour la construction des bâtiments à plusieurs étages.
- ✓ La corrélation, avec deux paramètres A et B ($R_c = A \cdot C_b^B$), a été confirmée entre le coefficient d'abrasion (C_b) et la résistance à la compression (R_c) pour tous les matériaux argileux étudiés. Cela peut potentiellement être utilisé pour estimer la qualité et les performances mécaniques des BTC en fonction du type de matériaux utilisés.

De plus, ces résultats sont satisfaisants car non seulement ils correspondent aux exigences des normes ; ils correspondent également aux résultats obtenus par d'autres recherches dans le domaine de la construction. Ceci permet de déduire que la granulométrie de la chaux CR utilisée (<400μm) est recommandable pour la production des BTC avec une atteinte des performances requises. Cependant, une étude complémentaire sur la durabilité des BTC stabilisées à la chaux CR devrait être faite afin de mieux comprendre le comportement de ces échantillons sous des conditions défavorables (la pluie par exemple). Il serait également important d'envisager une autre étude sur l'évaluation des paramètres physico-mécaniques (densité, résistance à la compression, résistance à l'abrasion) des BTC stabilisées à la chaux – CA en utilisant les mêmes argiles.

5. Références bibliographiques

[1] P. Nshimiymana, D. Miraucourt, A. Messan, and L. Courard (2018). Calcium carbide residue and

- rice husk ash for improving the compressive strength of compressed earth blocks. *MRS Advances* 3, 2009–2014.
- [2] H.S. Moussa, P. Nshimiyimana, C. Hema, O. Zoungrana, A. Messan, and L. Courard (2019). Comparative study of thermal comfort induced from masonry made of stabilized compressed earth block vs conventional cementitious material. *Journal of Mineral and Materials Characterization and Engineering* 7, 385–403.
- [3] P. Nshimiyimana, A. Messan, Z. Zhao, and L. Courard (2019). Chemico-microstructural changes in earthen building materials containing calcium carbide residue and rice husk ash. *Construction and Building Materials* 216C, 622–631.
- [4] P. Nshimiyimana, H.S. Moussa, A. Messan, and L. Courard (2020). Effect of production and curing conditions on the performance of stabilized compressed earth blocks: Kaolinite vs quartz-rich earthen material. *MRS Advances*, 5, 1277-1283.
- [5] O.S. Sore, A. Messan, E. Prud'homme, G. Escadeillas, and F. Tsobnang (2018). Stabilization of compressed earth blocks (CEB) by geopolymer binder based on local materials from Burkina Faso. *Construction and Building Materials* 165, 333–345.
- [6] P. Nshimiyimana, N. Fagel, A. Messan, O. D. Wetshondo, and L. Courard (2020a). Physico-chemical and mineralogical characterization of clay materials suitable for production of stabilized compressed earth blocks,” *Construction and Building Materials* 241, 118097.
- [7] XP P13-901 (2017). Blocs de terre comprimée pour murs et cloisons - Définitions - Spécifications - Méthodes d'essai - Conditions de réception Saint-Denis La Plaine Cedex.
- [8] CDI, CRATerre-EAG (1998). Compressed Earth Blocks: Standards guide-Technology series N 11.
- [9] C. Turco, A.C. Paula Junior, E.R. Teixeira, and R. Mateus (2021). Optimisation of Compressed Earth Blocks (CEB) using natural origin materials: A systematic literature compilation review. *Construction and Building Materials* 309, 125140.

Adsorption de l'Indigo Carmine sur du charbon activé produit à partir des épis de maïs

Armand Essis ABO¹, Yobouet Yao Augustin², KOUAKOU Yao Urbain^{3*}, et Albert TROKOUREY¹

¹UFR SSMT, Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière, Université Félix Houphouët-Boigny, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.

trokourey@gmail.com
essisarmandabo@gmail.com

²Ecole Normale Supérieure (ENS), Laboratoire de Chimie des Eaux (LCE), 08 BP 10, Abidjan 08, Côte d'Ivoire
yobouetya@gmail.com

³ UFR Sciences et Technologie, Université de Man, Côte d'Ivoire.

* urbainyk@gmail.com Tel.: +225 07 08 01 96 97

Groupe Thématique : R3EMOA Eau, Energies Environnement et Mines Ouest-africains

Résumé :

La pollution par les eaux usées de colorants est l'un des problèmes environnementaux les plus importants en raison du fait que l'utilisation d'une variété de colorants a augmenté dans le monde entier et particulièrement en Côte d'Ivoire. La diversité de ces molécules rend leur élimination difficile par les méthodes conventionnelles telles que la biodégradation, la coagulation, ...[1-2]. L'une des techniques efficace est l'adsorption sur charbon activé [3]. Ce procédé a pour difficulté majeure, le coût élevé de la production des charbons activés [4].

L'objectif de ce travail est de produire un charbon activé à moindre coût et l'utiliser dans l'élimination de l'indigo carmin. Le charbon a été préparé à partir des épis de maïs et activé chimiquement par KOH puis caractérisé. L'influence du pH et du temps de contact sur l'adsorption a été étudiée. Les résultats de cette étude ont révélé que le charbon préparé était microporeux, avait une surface spécifique de 546,77 m²/g et de pH_{PZC} = 6,2.

L'étude du phénomène d'adsorption a révélé que l'indigo carmin s'adsorbait vite sur le charbon (60 min) et était favorable en milieu acide. Par ailleurs, l'étude des isothermes a montré que le modèle de Langmuir décrit mieux le phénomène d'adsorption.

Mots Clés : Colorants ; charbon activé ; adsorption ; dépollution

Adsorption of Indigo Carmin on Corn Cobs Activated Carbon

Abstract: Wastewater pollution of dyes is one of the most important environmental problems due to the fact that the use of a variety of dyes has increased worldwide and particularly in Côte d'Ivoire. The diversity of these molecules makes their elimination difficult by conventional methods such as biodegradation, coagulation, ...[1-2]. One of the effective techniques is adsorption on activated carbon [3]. This process has for major difficulty, the high cost of the production of activated carbons [4].

The objective of this work is to produce an activated carbon at a lower cost and use it in the elimination of indigo carmine. Activated carbon was prepared from corn cobs and chemically activated by KOH and then characterized. The influence of pH and contact time on adsorption has been studied. The results of this study revealed that the prepared carbon was microporous, had a specific surface of 546.77 m²/g and pH_{PZC} = 6.2.

The study of the phenomenon of adsorption revealed that indigo carmine adsorbed quickly on charcoal (60 min) and was favorable in an acid medium. Moreover, the study of isotherms showed that the Langmuir model better describes the phenomenon of adsorption.

Keywords : Dyes; activated carbon; adsorption; depollution

1. Introduction

La pollution de l'eau est la préoccupation la plus importante dans les pays en développement et sous-développés. Au cours des dernières décennies, les colorants ont été les principales causes de pollution de l'eau [1]. Les industries du textile, du papier, du cuir, de l'imprimerie et des cosmétiques utilisent ces colorants. Les effluents rejetés par ces industries dans l'environnement ne cessent d'augmenter. Ces colorants, toxiques et peu dégradables, sont en général à l'origine de nombreux effets nocifs sur la santé. Ils affectent aussi directement l'équilibre des écosystèmes suite à la dégradation de la qualité des différents milieux de l'environnement (sol, eau, air). Parmi les colorants les plus utilisés, il y a l'indigo carmine. Il est largement utilisé dans les industries textile, alimentaire et cosmétique. Selon l'OMS, la limite autorisée de colorant indigo carmin est de 5 µg L⁻¹ dans l'eau [2]. L'indigo carmine est connu par sa toxicité, son contact peut provoquer des irritations cutanées et oculaires et également des lésions

permanentes de la cornée et de la conjonctive chez l'être humain. La consommation du colorant peut entraîner une toxicité reproductive, neurologique et aiguë [3]. L'indigo carmine provoque une irritation des voies respiratoires telles que la toux et l'essoufflement [4]. C'est pourquoi, la dépollution des eaux contaminées par les colorants précisément l'IC s'avère nécessaire aussi bien pour la protection de l'environnement que pour une éventuelle réutilisation de ces eaux [5]. Diverses méthodes ont été étudiées afin d'éliminer l'Indigo Carmine de l'eau et des eaux usées telles que les méthodes électrochimiques, photocatalytiques et biologiques [6]. Parmi toutes les méthodes susmentionnées, l'adsorption s'est avéré être la méthode la plus efficace et la plus fiable pour l'élimination des colorants. L'élimination des colorants dans les solutions aqueuses par adsorption sur différents matériaux solides, en particulier sur le charbon actif, a fait l'objet de beaucoup de travaux [7].

Les charbons actifs peuvent être produits à partir d'une variété de substances naturelles et synthétiques mais les matériaux lignocellulosiques sont l'un des précurseurs les plus utilisés [8].

Les avantages des charbons actifs comme adsorbants sont leur grande surface spécifique, leur structure poreuse et la cinétique d'adsorption rapide [9].

Cependant, les charbons actifs commerciaux, principaux adsorbants utilisés, sont relativement chers, nécessite en plus une régénération, constituant un facteur limitant et ces matériaux sont également peu accessibles à grande échelle aux pays en développement. Ainsi, au cours des récentes décennies, la recherche de matériaux adsorbants bon marché, ayant une efficacité comparable à celle des charbons actifs commerciaux, en ce qui a trait à leur utilisation, a constitué un important thème de recherche. Ce qui a conduit à la mise au point de nombreux procédés de fabrication pour permettre une plus grande production de charbon actif à partir de nombreuses matières végétales riches [10]

La Côte d'Ivoire importe du charbon actif qui est utilisé dans divers domaines alors que le pays dispose d'importantes réserves en biomasses lignocellulosiques. Ces dernières se retrouvent sous forme de déchets d'ailleurs très difficile à gérer par les municipalités. C'est pourquoi, ce travail consiste à élaborer et caractériser du charbon actif à partir des épis de maïs par activation chimique à l'hydroxyde de potassium (KOH) afin d'éliminer l'indigo carmine en solution aqueuse.

2. Matériel et méthodes

2.1 Préparation du charbon actif

Les épis de maïs utilisés comme précurseur pour la préparation des charbons activés ont été collectés dans la ville de Korhogo (Nord de la Côte d'Ivoire).

La préparation et l'activation du charbon ont été réalisées thermiquement et chimiquement à l'aide d'hydroxyde de potassium à 500°C. Pour cela, les épis de maïs broyés en petits morceaux ont été lavés à l'eau du robinet pour dépoussiérer, puis lavés à l'eau distillée et séché à l'étuve à 105°C pendant 24h avant séchage. Après cette étape, les épis de maïs ont été imprégnés à température ambiante et à pression atmosphérique sous agitation magnétique dans une solution de H₃PO₄. La matière carbonée est carbonisée à 500°C dans un four de marque OBERVAL. Le charbon obtenu est lavé abondamment, après refroidissement, à l'eau distillée jusqu'à ce que le pH de l'eau de rinçage soit compris entre 6 et 7. Le charbon ainsi obtenu est séché à l'étuve à 105°C pendant 24 h, puis broyé et tamisé (taille ≤ 125µm).

2.2 Caractérisation des charbons actifs

La surface spécifique a été déterminée par adsorption d'acide acétique en milieu aqueux. L'indice d'iode a été déterminé en adaptant la méthode CEFIC 1989 et la norme AWWA B 600-90.

Pour ce faire, 100 mL d'une solution d'iode 0,1N sont traités à chaud et en milieu acide pendant 30 secondes avec une quantité de charbon actif. La solution traitée est filtrée et 50 mL du filtrat sont titrés avec une solution de thiosulfate de sodium 0,1 N avec de l'amidon comme indicateur de fin de réaction. Les fonctions de surface ont été déterminées et quantifiées par la méthode de titrage de Boehm par action du charbon actif sur NaHCO₃, CaCO₃, NaOH et

La détermination du pH_{pzc} a été réalisée en ajoutant 0,15 g de CA à 50 mL de solutions de NaCl (0,01M). Le pH de chaque mélange est ajusté entre 2 et 12 en ajoutant une solution de NaOH ou HCl 0,1 M. L'agitation est maintenue pendant 48 heures, à une température de 25°C. Le pH final de chaque mélange est alors mesuré. On trace le graphique $\Delta pH = f(pH_i)$. Le pH_{pzc} est le point d'intersection de la courbe avec l'axe qui passe par zéro. La teneur en cendres des charbons a été déterminée en se référant à l'ASTM (American Standards Technology Method), ASTM D 2866-94. Une masse de charbon est placée dans un creuset puis placée dans une étuve à 650°C jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de perte de masse

délectable. Cela se produit après 7h. La morphologie du charbon actif a été déterminée au microscope électronique à balayage (MEB) à l'aide d'un Tescan LYRA 3 XMH.

Les structures cristallines ont été analysées par un diffractomètre à rayons X (D8 Advance Bruker, Allemagne) avec un détecteur au germanium pour un angle 2θ entre 20 et 1200 avec une vitesse de balayage de 0,01°/s.

2.3 Dosage spectrophotométrique des échantillons

L'indigo carmine est un colorant anionique de formule $(C_{16}H_8O_2N_2(SO_3)_2Na_2)$ a été fourni par Sigma Aldrich et tous les autres réactifs chimiques sont de qualité analytique. Il est utilisé comme molécule modèle dans l'adsorption de colorants sur charbon actif. Le spectrophotomètre Hach 3900 a été utilisé pour déterminer les concentrations de la solution d'indigo carmine. La longueur d'onde maximale correspondant à l'adsorption du colorant est $\lambda_{max} = 610$ nm.

2.4) Etude cinétique d'adsorption

L'étude de la cinétique d'adsorption de l'indigo carmine a été réalisée à température ambiante sur le charbon actif obtenu à base d'épis de maïs. L'objectif est de déterminer le temps nécessaire pour atteindre l'équilibre d'adsorption du charbon actif et l'ordre cinétique. Pour l'étude de la cinétique d'adsorption, une masse de 0,25 g de charbon actif a été mélangée avec 25 mL de la solution de colorant IC de différentes concentrations dans une fiole conique de 100 mL. Le pH a été ajusté à 2 à 25°C. Ces mélanges ont été secoués sur un agitateur magnétique à 150 tr/min pendant des intervalles de temps de 5 et 60 min. La centrifugation pour la séparation du charbon actif et de l'adsorbat est effectuée pendant 15 min dans une centrifugeuse. Les concentrations résiduelles des filtrats sont déterminées à l'aide d'un spectrophotomètre Hach 3900. La quantité de colorant adsorbé sur le carbone est calculée selon l'équation suivante

$$q_t = \frac{(C_0 - C_t)}{m} \times V \quad (1)$$

Où q_t est la quantité de colorant IC adsorbée par le charbon actif (mg/g) ;

C_0 et C_t sont respectivement la concentration initiale et finale de colorant au temps après filtration (mg/L) ; V est le volume de solution initial (L) et m est la masse du charbon actif (g).

2.5) Isothermes d'adsorption et modélisation

Le mode opératoire des isothermes, est à peu près le même que celui de la cinétique d'adsorption. Un volume (V) de 25 mL de solution d'indigo carmine à pH 2 est versé dans différents erlenmeyers. Les concentrations initiales (C_0) des solutions varient d'un flacon à un autre : 10 ; 25 ; 40 ; 50 ; 75 ; 100 mg/L. La masse de charbon actif $m = 0,25$ g est ajoutée dans les erlenmeyers qui sont agités pendant le temps d'équilibre qui est de 1 heure. Les mélanges sont filtrés et dosés au Spectrophotomètre Hach 3900 afin de déterminer les concentrations résiduelles. La quantité de colorant adsorbée a été déterminée par la formule suivante

$$q_e = \frac{(C_0 - C_e)}{m} \times V \quad (2)$$

q_e : la quantité d'espèces adsorbée par gramme d'adsorbant à l'équilibre en mg/g ; C_e : la concentration de l'espèce en solution à l'équilibre en mg/g ; C_0 : la concentration initiale de l'espèce en mg/L ; V : le volume de solution et m : la masse de l'adsorbant en g.

1. Résultats et discussion

3.1 Caractérisation du charbon actif

Les caractéristiques du charbon actif sont données dans le tableau 1. La faible teneur en cendres reflète une faible fraction de composés minéraux et donc une bonne préparation du charbon avec une fraction carbonée importante. L'indice d'iode donne une estimation de la surface relative de l'échantillon et est généralement utilisé pour mesurer la porosité des pores de plus de 1,0 nm de diamètre. Dans cette étude, l'indice d'iode est de 546 mg/g. Ce résultat est dans la gamme typique de 500 à 1200 mg/g, reflétant le caractère microporeux de ce charbon. Ainsi, ce charbon actif pourrait être excellent dans l'adsorption de

molécules en phase liquide [11]. Le pH de charge nulle (pH_{ZPC}) du carbone, point auquel la charge nette d'adsorbant est zéro a été mesuré en utilisant la méthode de titrage acide/base. Le pH_{ZPC} s'est avéré être de 5,3. Le carbone a une surface généralement acide dominée par les fonctions phénolique, lactonique et carboxylique. La valeur de la surface spécifique du charbon préparé est de $613 \text{ m}^2/\text{g}$. Cette valeur est supérieure à la surface spécifique des charbons actifs produits avec les déchets solides d'olive par Hamouz et al. [12]. Le diagramme de diffraction des rayons X (DRX) de l'Activé est illustré par la figure 1. L'apparition d'un large fond de diffraction et l'absence d'un pic net révèlent une structure principalement amorphe.

Tableau 1: Caractéristiques du charbon actif à base des épis de maïs

Paramètres	Valeurs
Taux de cendre	6%
Surface spécifique (m^2/g)	613
Nombre d'iode (mg/g)	674
pH_{ZPC}	5,3
Fonction carboxylique ($\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$)	1,48
Fonction lactonique ($\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$)	1,90
Fonction phénolique ($\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$)	2,02
Fonction acide ($\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$)	5,40
Fonction basique ($\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$)	2,05

3.2 Etude cinétique de l'adsorption

L'étude de la cinétique d'adsorption de l'indigo carmin sur le charbon activé a été réalisée avec une concentration initiale de $25 \text{ mg}/\text{L}$. La courbe de la figure 1 montre la quantité de l'indigo carmin adsorbé en fonction du temps. On constate que la quantité adsorbée augmente en fonction du temps. Le processus d'adsorption est rapide dans les 10 premières minutes. Il y a une saturation rapide des sites actifs du charbon par le colorant. Le taux d'adsorption est rapide en raison de la plus grande disponibilité des surfaces vacantes. Après saturation de ces sites actifs, les colorants pénètrent dans les pores de l'adsorbant avec une vitesse plus lente pour atteindre le temps d'équilibre [12]. Le temps d'équilibre est de 30 min. Ce charbon a une excellente affinité avec l'indigo carmin.

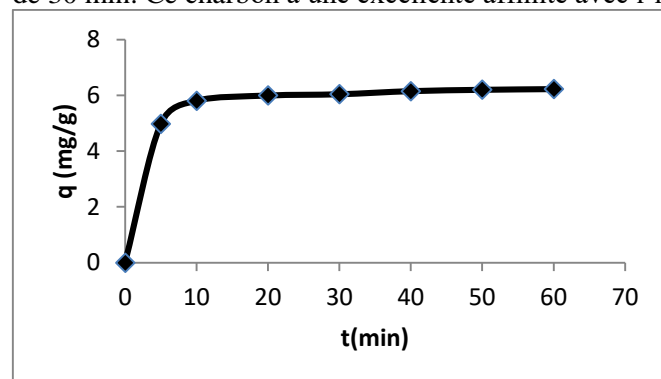


Figure 1 : Quantité de l'indigo carmin adsorbée en fonction du temps

3.3 Etude de l'adsorption à l'équilibre

L'étude de l'adsorption de l'indigo carmin sur le charbon activé à base d'épis de maïs a été réalisée à 27°C . La quantité de colorant adsorbé à l'équilibre par masse de charbon est donnée sur la figure 2. La quantité de colorants adsorbés augmente avec la concentration à l'équilibre. Cet isotherme semble être de type I selon la classification IUPAC, justifiant l'aspect microporeux du carbone utilisé [13].

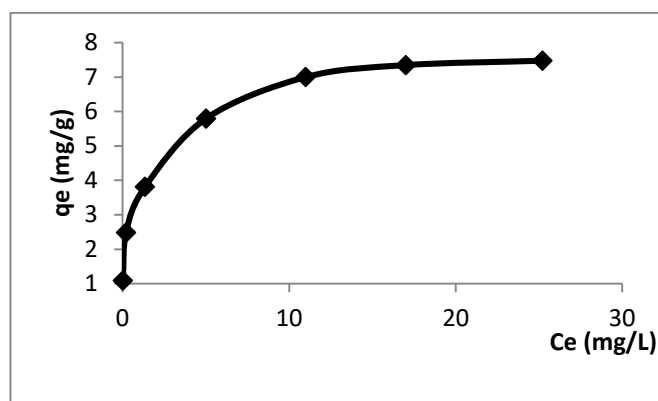


Figure 2 : Isotherme d'adsorption de l'indigo carmin sur le charbon activé à base des épis de maïs

Pour étudier le phénomène d'adsorption, 2 modèles ont été utilisés à savoir le modèle de Freundlich et le modèle de Langmuir.

L'équation empirique de Freundlich s'écrit:

$$q_e = K_F C_e^{1/n} \quad (3)$$

L'équation de Langmuir est :

$$q_e = \frac{q_m b C_e}{1 + b C_e} \quad (4)$$

L'application des formes linéaires de chaque modèle a permis de tracer la courbe $\ln q_e = f(C_e)$ pour le modèle de Freundlich (figure 3a) et $1/q_e = f(1/C_e)$ pour le modèle de Langmuir (figure 3b). Le coefficient de corrélation linéaire est supérieur à 0,97 pour le modèle de Freundlich et n est proche de 1. L'adsorption est favorable. Le modèle de Freundlich peut être utilisé pour décrire l'adsorption de l'indigo carmin sur ce charbon, reflétant l'hétérogénéité de la surface de ce charbon [13]. Pour le modèle de Langmuir, R^2 est supérieur à 0,99. Le modèle de Langmuir peut donc être utilisé pour décrire l'adsorption du de l'indigo carmin sur ce charbon.

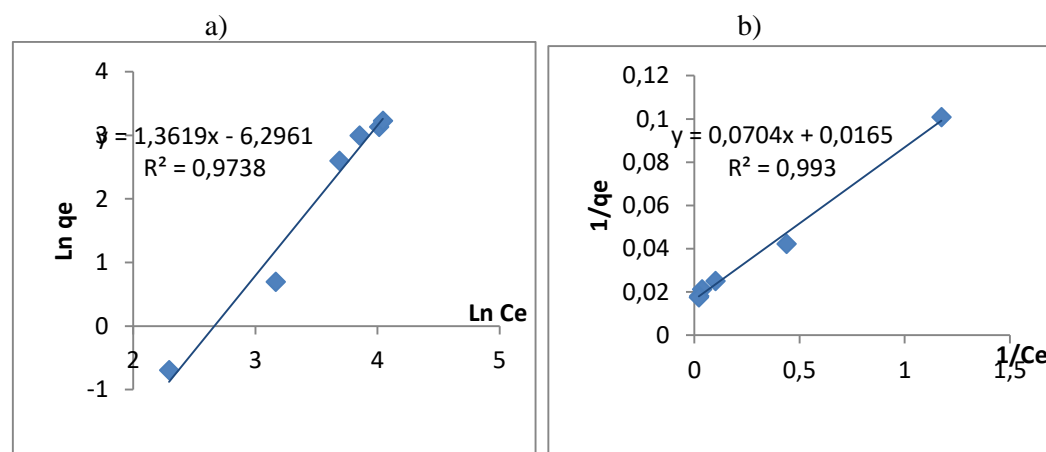


Figure 3 : Courbes de Freundlich (3a) et de Langmuir pour modéliser l'adsorption de l'indigo carmin

3.5 Effet du pH

L'influence du pH sur l'élimination de l'indigo carmin par le charbon activé est représentée sur la figure 4. Comme on peut le voir sur la figure, le taux d'élimination de l'indigo carmin qui est de 96,92% à pH = 2, diminue avec l'augmentation du pH pour atteindre une valeur de 22,03% à pH = 12. Ces résultats montrent que l'adsorption est fortement dépendante du pH. L'élimination maximale de de l'indigo carmin est obtenue à pH 2. La valeur pH_{PZC} pour le charbon activé qui est de 5,3 confirme les plages de valeurs de pH optimales pour l'élimination du colorant. En effet, à un pH de solution inférieur au pH_{PZC} , la charge de surface du charbon activé est chargée positivement, tandis qu'à un pH de solution plus élevé, la charge de surface du charbon devient négative. Par conséquent, à un pH plus bas, un excès de proton (H^+) en solution sera disponible, augmentant ainsi l'attraction électrostatique entre les sites d'adsorption chargés positivement du charbon et le colorant anionique entraînant ainsi une augmentation

de la quantité de l'indigo carmin adsorbée [14]. Lorsque le pH de la solution est supérieur au pH_{PZC} , le nombre de sites chargés négativement augmente et le nombre de sites chargés positivement du charbon diminue. Un site de surface chargé négativement sur l'adsorbant ne favorise pas l'adsorption des colorants anioniques en raison de la répulsion électrostatique [15]. La diminution significative du taux d'adsorption de l'indigo carmin et dans la zone de pH alcalin pourrait être justifiée par la présence en excès d'ions OH⁻ qui entrent en compétition avec les colorants anioniques au niveau des sites d'adsorption.

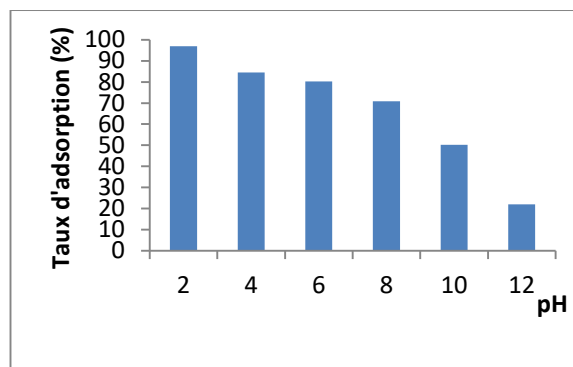


Figure 6 : Effet du pH sur l'adsorption du de l'indigo carmin

3. Conclusion

L'ensemble des résultats obtenus nous a permis de tirer les conclusions suivantes :

L'activation chimique du charbon issus des épis de maïs est très efficace ; Les résultats de la caractérisation ont montré que le charbon actif élaboré est doté d'une porosité assez élevée ;

Les essais d'élimination de l'Indigo carmine en solution aqueuse ont donné un rendement allant jusqu'à 99,96% pour le charbon actif élaboré. Ces résultats ont été obtenus pour un temps d'équilibre de 1 h, une masse en adsorbant (CA) de 0,25 g, une concentration initiale de la solution de 25 mg/L ayant un pH = 2. On peut donc conclure que notre charbon activé à base d'épis de maïs est un vrai concurrent pour le charbon actif commercial et que le mode d'activation est très efficace.

4. Bibliographie

- [1] Alwi, R. S., Gopinathan, R., Bhowal, A., & Garlapati, C. (2020). Adsorption Characteristics of Activated Carbon for the Reclamation of Eosin Y and Indigo Carmine Colored Effluents and New Isotherm Model. *Molecules*, 25(24), 6014.
- [2] Sahmoune MN. Performance de la biomasse de *Streptomyces rimosus* dans la biosorption des métaux lourds à partir de solutions aqueuses. *Microchem J.* 2018;141:87–95)
- [3] Preparation and characterization of activated carbons from olive wastes by physical and chemical activation: Application to Indigo carmine adsorption G. Enaïme1 , K. Ennaciri1 , A. Ounas1 , A. Baçaoui1 , M. Seffen2 , T. Selmi2 , A. Yaacoubi1*
- [4] dewumi O. Dada, Folahan A. Adekola, Ezekiel O. Odeunmi, Fehintoluwa E. Dada, Oluwasesan M. Bello, Banjo A. Akinyemi, Olugbenga S. Bello & Oghenerukevwe G. Umukoro (2020) *Ocimum gratissimum* durable et peu coûteux pour biosorption du colorant indigo carmin : études cinétiques, isothermes et thermodynamiques, *International Journal of Phytoremediation*, 22:14, 1524-1537,
- [5] Alwi, R. S., Gopinathan, R., Bhowal, A., & Garlapati, C. (2020). Adsorption Characteristics of Activated Carbon for the Reclamation of Eosin Y and Indigo Carmine Colored Effluents and New Isotherm Model. *Molecules*, 25(24), 6014.
- [6] Flox C., Ammar S., Arias C., Brillas E., Viridiana Vargas-ZavalaA., Ridha A., *Appl. Catal. B: Environ.* 67 (2006) 93., Secula M. S., Crețescu I., Petrescu S., *Desalination* 277 (2011) 227., photochimiques [Gómez-Solís C., Juárez-Ramírez I., Moctezuma E., Torres-Martínez M., *J. Hazard. Mater.* 217–218 (2012) 194.
- [7] (Chen, CX, Huang, B., Li, T. et Wu, GF (2012). Préparation de charbon actif d'acide phosphorique à partir de bagasse de canne à sucre par traitement mécano-chimique. *BioResources* , 7 (4), 5109-5116. ; Hiremath, MN, Shivayogimath, CB, Shivalingappa, SN (2012) Préparation et caractérisation de charbon actif granulaire à partir d'épis de maïs par activation KOH. *Journal international de recherche en chimie environnement* 2 : 84 – 87 . ; Kennedy, LJ, Vijaya, JJ, Sekaran, G. et Kayalvizhi,

- K. (2007). Études d'équilibre, cinétiques et thermodynamiques sur l'adsorption du m-crésol sur le carbone micro- et mésoporeux. *Journal des matières dangereuses*, 149 (1), 134-143.).
- [8] E. I. EL-SHAFFEY, S. N. F. ALI, S. AL-BUSAFI and H. A. J. AL-LAWATI, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, (4) (2016) 2713 -2724
- [9] Noorimotlagh Z., Darvishi Cheshmeh Soltani R., Khataee A.R., Shahriyar S., Nourmoradi H., *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* 45 (2014) 1783
- [10] Préparation et caractérisation d'un charbon actif à partir de la coquille d'amande (*Prunus amygdalus*). *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement* 18 : 492-502.) :

Développement d'une Nouvelle Méthodologie de Cyclopropanation Arylante

COULIBALI Siomenan^{1*}, CAMARA Tchambaga Etienne, CANESI Sylvain²

1. *Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière, UFR Sciences des Structures de la Matière et Technologie, Université Félix Houphouët Boigny de Cocody, 22 BP582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.*
2. *Laboratoire de Méthodologie et synthèse de produits naturels, Université de Québec à Montréal, C.P. 8888, Succ. Centre-ville, Montréal, H3C 3P8, Québec Canada*

Groupe thématique(ReSBOA) : Réseau des substances biologiquement actives ouest-Africain

*Auteur correspondant : Coulibali Sioménan. E-mail : bsiomenan@yahoo.fr

Résumé : La cyclopropanation est un processus important en synthèse, produisant des structures cycliques à trois chaînons qui sont utilisés comme précurseurs pour l'élaboration d'intermédiaires réactionnels. Les cyclopropanes sont formés dans plusieurs processus comme la méthode de Simmons–Smith ou ses variantes par des composés diazoïques, des ylures d'iodonium de Corey-Chaykovsky ou des transformations de Kulinkovich. L'objectif de ce travail est de conceptualiser une nouvelle méthodologie de cyclopropanation arylative stéréosélective. Cette nouvelle méthode a été développée par la réaction de Michael–Smiles en traitant des diénones possédant quelque fois des halogènes en position ortho en présence de donneurs de Michael contenant une nitroaryl-sulfone. Avec les diénones halogénés, nous avons obtenu les cyclopropanes avec des rendements compris entre 50 et 74%. La version asymétrique a été réalisée avec un rendement de 45%. Nous avons également pu accéder aux cyclopropanes par réaction radicalaire avec des rendements compris entre 53 et 58%. Ces synthèses ont été réalisées dans les conditions légèrement basiques à des températures modérées avec le dioxyde de soufre comme seul sous-produit. Une bonne diastéréosélectivité a été observée même lors de la formation des cyclopropanes fortement substitués. Nous comptons utiliser cette méthode pour élaborer des molécules naturelles comportant des cyclopropanes.

Mots clés : Cyclopropane, arylative, Michael-Smiles, Ylures

Abstract : Cyclopropanation is an important process in synthesis, producing three-membered ring structures that are used as precursors for the elaboration of reaction intermediates. Cyclopropanes are formed in several processes like the Simmons-Smith method or its variants by diazo compounds, iodonium ylides from Corey-Chaykovsky or Kulinkovich transformations. The objective of this work is to conceptualize a new stereoselective arylative cyclopropanation methodology. This new method was developed by the Michael-Smiles reaction by treating dienones sometimes having halogens in the ortho position in the presence of Michael donors containing a nitroaryl-sulfone. With halogenated dienones, we obtained cyclopropanes with yields between 50 and 74%. The asymmetrical version was made with a yield of 45%. We were also able to access cyclopropanes by radical reaction with yields of between 53 and 58%. These syntheses were performed under mildly basic conditions at moderate temperatures with sulfur dioxide as the only by-product. Good diastereoselectivity was observed even when forming highly substituted cyclopropanes. We intend to use this method to develop natural molecules containing cyclopropanes.

Keywords : Cyclopropane, arylative, Michael-Smiles, Ylures

1. Introduction

La cyclopropanation est un processus important en synthèse organique, aboutissant aux structures cycliques à trois chaînons utilisées comme précurseurs pour l'élaboration d'intermédiaires réactionnels. Plusieurs méthodes de cyclopropanation sont décrites telles que la méthode de Simmons–Smith [1] ou ses variantes médiées par des composés diazoïques ou des ylures d'iodonium [2], les transformations de Corey-Chaykovsky [3] ou de Kulinkovich [4] ou d'alkylation intramolécule [5]. De nos jours, les défis environnementaux actuels imposent le fait que les transformations doivent être économiques en atome et respecter le concept de "chimie verte" [6]. L'objectif de ce travail est de mettre au point une nouvelle méthodologie stéréosélective de cyclopropanation arylative respectant les principes de la chimie verte. Cette nouvelle méthode a été développée par application de la réaction de Michael–Smiles [7] en traitant des diénones possédant quelque fois des halogènes en position ortho en présence de donneurs de Michael contenant une nitroaryl-sulfone. Ces synthèses ont été réalisées dans les conditions

légèrement basiques à des températures modérées et une bonne diastéréosélectivité a été observée même lors de la formation des cyclopropanes fortement substitués.

2. Matériels et méthodes

2.1. Matériels

Les spectres de résonnance magnétique nucléaire du proton (RMN ¹H) et du carbone (¹³C) ont été enregistrés respectivement à 300 et 75 MHz, dans des solutions de CDCl₃. Les déplacements chimiques sont indiqués en ppm sur l'échelle δ. Les multiplicités sont décrites comme s (singlet), d (doublet), dd, ddd, etc. (doublet de doublets, doublet de doublets de doublets, etc.), t (triplet), q (quartet), p (pentuplet), m (multiplet), et qualifiées de app (apparent) br (large) c (complexe). Les constantes de couplage, J, sont indiquées en Hz. Les spectres IR (cm⁻¹) ont été enregistrés à partir de films minces. Les spectres de masse (m/e) ont été mesurés en mode électrospray (ESI).

2.2 Méthodes

2.2.1. Procédure générale d'obtention des diénones dans l'iode hypervalent

2 mmol (2 équiv.) du DIB a été ajouté à une solution vigoureusement agitée de sulfonamide (1 mmol, 1 équiv.) dans 5 mL de méthanol à 0 °C. Le mélange a ensuite été agité pendant 5 min (suivi d'une CCM avec un mélange d'éthylacétate/hexane) puis concentrée sous vide. Le résidu a été purifié par chromatographie sur gel de silice avec un mélange d'éthylacétate/hexane pour donner le produit 3.

2.2.2. Procédure générale : Procédé de Michael-Smile-cyclopropanation

A une solution de diénone (1,0 équiv, 0,51 mmol) dans l'acétonitrile (3,0 mL), est ajouté l'acétate de méthyle 2-(2-nitrophénylsulfonyl) (2 équiv, 1,02 mmol) et le carbonate de césium (3,0 équiv, 1,53 mmol). La solution est ensuite agitée à 82°C pendant 3 à 12 heures. A la fin de la réaction, la solution est filtrée à travers un tampon de gel de silice et concentrée sous vide. Le résidu obtenu est ensuite purifié par chromatographie sur gel de silice avec un mélange acétate d'éthyle/hexane pour donner les composés correspondants.

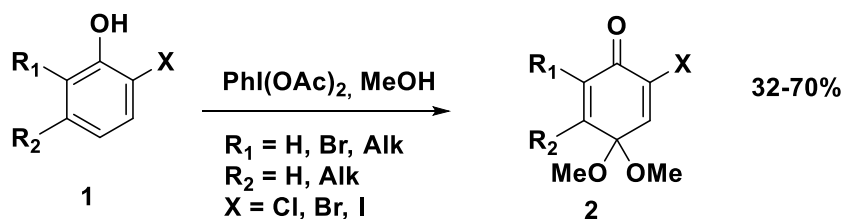
2.2.3. Méthode générale de synthèse de cyclopropane par un processus radicalaire

A une solution de diénone (1,0 équiv, 0,2 mmol) dans de l'acétonitrile (6,0 mL), est ajouté l'acétate de méthyle 2-(2-nitrophénylsulfonyl) (2 équiv, 0,4 mmol) et le carbonate de césium (3,0 équiv, 0,6 mmol). La solution a été agitée à 82°C pendant 12 heures sous une atmosphère d'oxygène. A la fin de la réaction, le mélange réactionnel est versé dans l'eau et extrait avec l'acétate d'éthyle (3 x 50 mL). La phase organique est séparée, séchée avec Na₂SO₄ et concentrée sous pression réduite. Le résidu est ensuite purifié par chromatographie sur gel de silice avec un mélange acétate d'éthyle/hexane pour donner le cyclopropane correspondant.

3. Résultats et discussion

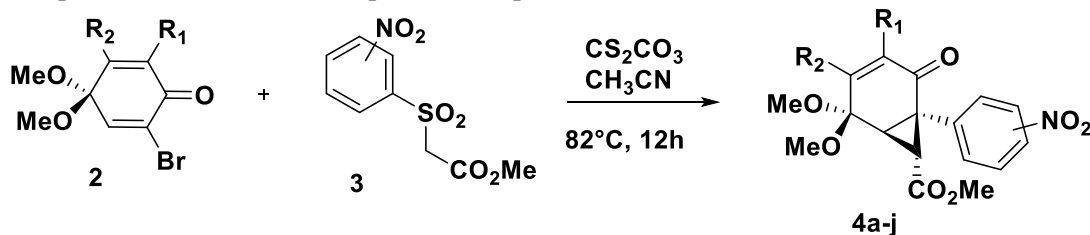
3.1. Synthèse des accepteurs de Michael : Oxydation dans l'iode hypervalent

Les diénones ont été obtenus par activation grâce à un réactif à base d'iode hypervalent, comme le DIB (Schéma 1), dans le méthanol utilisé comme solvant et nucléophile. Ces conditions ont été développées par le Pr. Kita au Japon. C'est un procédé de transferts d'électrons célibataires, c'est à dire que l'atome d'iode va consécutivement prendre deux électrons à l'oxygène du phénol. Il en résulte donc la formation d'une charge positive sur l'oxygène. Ce dernier, étant électroattracteur, ne va pas supporter l'apparition de cette charge, et va la délocaliser dans le cycle, en position para, conduisant à l'obtention d'un ion phénoxonium. Il va s'en suivre une réaction de substitution nucléophile dans laquelle le méthanol va se substituer en position para pour former la diénone. Ainsi, nous avons obtenu la diénone 2 par oxydation des phénols halogénés 1 en présence de méthanol et d'un réactif iode hypervalent. L'iode et le brome ont donné des résultats légèrement améliorés.



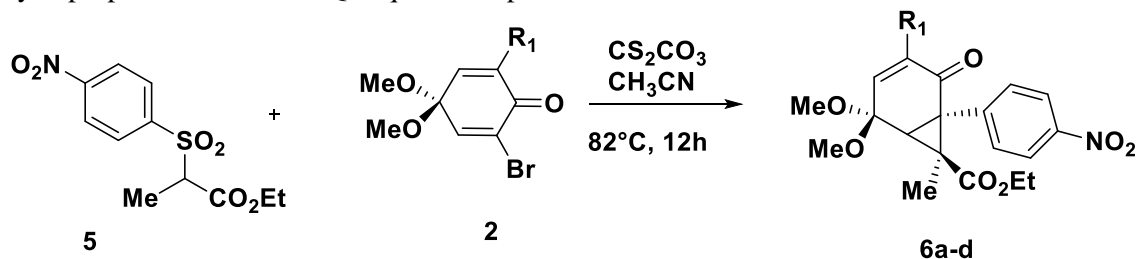
3.2. Synthèse des cyclopropanes : Procédé de Michael-Smile

Les dérivés ortho- et para-nosylés 3 régissent avec les diénones en présence de carbonate de césium dans l'acétonitrile pour donner différents cyclopropanes avec des rendements moyens. Un aspect intéressant de ce procédé est la bonne stéréosélectivité observée, avec un seul diastéréoisomère observé dans les spectres RMN ¹³C Les composés correspondants 4 obtenus sont décrits dans le Tableau 1



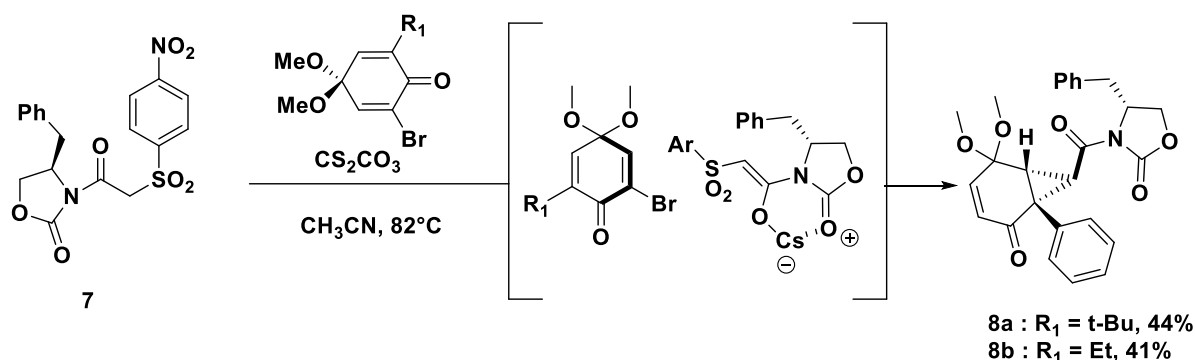
Entrées	NO ₂	R ₁	R ₂	Rdts (%)
4a	ortho	Me	Me	64
4b	para	Me	Me	68
4c	ortho	Et	H	61
4d	para	Me	H	70
4e	ortho	t-Bu	H	74
4f	para	t-Bu	H	73
4g	ortho	Me	H	63
4h	para	allyl	H	70
4i	para	Br	H	50
4j	para	Et	H	71

Afin de produire une sous-unité cyclopropane hautement substituée, la réaction a été étendue au composé 10, un dérivé méthylique de 7. Un seul diastéréoisomère a été observé par RMN ¹³C le cyclopropane substitué 12. Quelques exemples sont décrits dans le tableau 2.



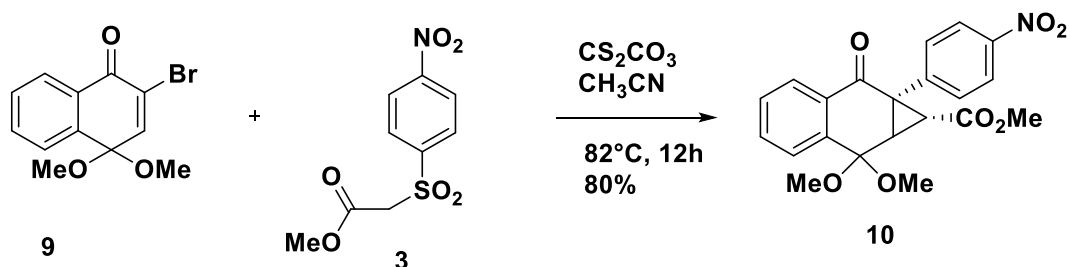
Entrées	R ₁	Rdts
6a	t-Bu	67
6b	allyl	61
6c	Et	60
6d	Me	49

Une variante asymétrique contenant un auxiliaire Evans [8] a été mise au point, et les cyclopropanes 15 correspondants ont été obtenus avec des rendements de 41 % et 44 % et une excellente stéréosélectivité de 95 % d'après la RMN ¹³C. Une approche potentielle suggérant un état de transition ouvert pour expliquer la stéréosélectivité observée est décrite dans le schéma



3.3. Synthèse de cyclopropane par un processus radicalaire

Au cours de nos différents essais, nous avons observé que la réaction entre l'énone **9** et le nitroaryl-sulfone **3** entraîne la formation d'un cyclopropanique intéressant **10** avec une très bonne diastéréosélectivité.



Le rendement de cette réaction augmente en présence d'oxygène et diminue en présence de TEMPO, ce qui suggère qu'un processus radicalaire via un transfert d'électrons médié par l'oxygène est responsable. Le composé **10** est un polyfonctionnel obtenu de manière diastéréosélective en une étape à partir de réactifs simples. Cependant, nous n'avons pas été en mesure d'étendre cette méthode à d'autres substrats. Nous avons donc étudié des méthodes alternatives pour générer cet échafaudage de cyclopropane, en commençant par l'introduction d'un brome en α sur la partie énone afin de remplacer l'étape incertaine de cyclopropanation oxydative par une alkylation intramoléculaire. Nous avons été heureux d'observer que le cyclopropane **10** a été obtenu avec un rendement de 80 % par cette stratégie.

4. Conclusion

En résumé, nous avons développé une nouvelle transformation arylative stéréosélective de cyclopropanation médiée par un processus en cascade de fermeture de cycle de Michael-Smiles. Ces méthodes se déroulent dans des conditions légèrement basiques à des températures modérées avec du dioxyde de soufre comme seul sous-produit. Une très bonne diastéréosélectivité est observée au cours de cette transformation multi-étapes, même lors de la formation de fragments de cyclopropane hautement substitués.

5. Bibliographie

- [1] (a) Simmons, H. E.; Smith, R. D. *J. Am. Chem. Soc.* 1958, 80, n5323. (b) Simmons, H. E.; Smith, R. D. *J. Am. Chem. Soc.* 1959, 81, 4256. (c) Charette, A. B.; Beauchemin, A. *Org. React.* 2001, 58, 1. (d) Hoveyda, A. H.; Evans, D. A.; Fu, G. C. *Chem. Rev.* 1993, 93, 1307. (e) Pellissier, H. *Tetrahedron* 2008, 64, 7041. (f) Lebel, H.; Marcoux, J. F.; Molinaro, C.; Charette, A. B. *Chem. Rev.* 2003, 103, 977. (g) Furukawa, J.; Kawabata, N. *Adv. Organomet. Chem.* 1974, 12, 83.
- [2] (a) Doyle, M. P.; McKervey, M. A.; Ye, T. *Modern Catalytic Methods for Organic Synthesis with Diazo Compounds: From Cyclopropanes to Ylides*; Wiley: New York, 1998. (b) Moreau, B.; Charette, A. B. *J. Am. Chem. Soc.* 2005, 127, 18014. (c) Marcoux, D.; Goudreau, S. R.; Charette, A. B. *J. Org. Chem.* 2009, 74, 8939. (d) Nani, R. R.; Reisman, S. E. *J. Am. Chem. Soc.* 2013, 135, 7304. (e) Deng, C.; Wang, L.; Zhu, J.; Tang, Y. *Angew. Chem., Int. Ed.* 2012, 51, 11620. (f) Lindsay, V. N. G.; Fiset, D.; Gritsch, P. J.; Azzi, S.; Charette, A. B. *J. Am. Chem. Soc.* 2013, 135, 1463. (g) Lindsay, V. N. G.; Fiset, D.; Gritsch, P. J.; Azzi, S.; Charette, A. B. *J. Am. Chem. Soc.* 2013, 135, 1463. (h) Duan, Y. N.; Zhang, Z.; Zhang, C. *Org. Lett.* 2016, 18, 6176.
- [3] (a) Johnson, A. W.; LaCount, R. B. *J. Am. Chem. Soc.* 1961, 83, 417. (b) Corey, E. J.; Chaykovsky, M. *J. Am. Chem. Soc.* 1965, 87, 1353. (c) Li, A. H.; Dai, L. X.; Aggarwal, V. K. *Chem. Rev.* 1997, 97, 2341.

- (4) (a) Kulinkovich, O. G.; Sviridov, S. V.; Vasilevskii, D. A.; Pritytskaya, T. S. *Zh. Org. Khim.* 1989, 25, 2244. (b) Kulinkovich, O. G.; de Meijere, A. *Chem. Rev.* 2000, 100, 2789.
- [5] (a) Papageorgiou, C. D.; Ley, S. V.; Gaunt, M. J. *Angew. Chem., Int. Ed.* 2003, 42, 828. (b) Liao, W. W.; Li, K.; Tang, Y. J. *Am. Chem. Soc.* 2003, 125, 13030. (c) Bremeyer, N. S.; Smith, S. C.; Ley, S. V.; Gaunt, M. J. *Angew. Chem., Int. Ed.* 2004, 43, 2681. (d) Kunz, R. K.; MacMillan, D. W. J. *Am. Chem. Soc.* 2005, 127, 3240. (e) Ibrahim, I.; Zhao, G. L.; Rios, R.; Vesely, J.; Sunden, H.; Dziedzic, P.; Córdoba, A. *Chem. - Eur. J.* 2008, 14, 7867. (f) Gao, L.; Hwang, G. S.; Ryu, D. H. *J. Am. Chem. Soc.* 2011, 133, 20708. (g) Ferrary, T.; David, E.; Milanole, G.; Besset, T.; Jubault, P.; Pannecoucke, X. *Org. Lett.* 2013, 15, 5598. (h) Aitken, L. S.; Hammond, L. E.; Sundaram, R.; Shankland, K.; Brown, G. D.; Cobb, A. *Chem. Commun.* 2015, 51, 13558. (i) Shim, S. Y.; Kim, J. Y.; Nam, M.; Hwang, G. S.; Ryu, D. H. *Org. Lett.* 2016, 18, 160.
- [6] (a) Trost, B. M. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 1995, 34, 259. (b) Baran, P. S.; Maimone, T. J.; Richter, J. M. *Nature* 2007, 446, 404.
- (7) (a) Levy, A. A.; Rains, H. C.; Smiles, S. J. *Chem. Soc.* 1931, 0, 3264. (b) Truce, W. E.; Kreider, E. M.; Brand, W. W. *Organic Reactions* 1970, 18, 99.
- [8] Evans, D. A.; Bartroli, J.; Shih, T. L. *J. Am. Chem. Soc.* 1981, 103, 2127.

Électrochimie du palladium dans des solvants eutectiques profonds

Moussa Bougouma^{ab}, Soma Fousséni^{ab}, Quentin Rayée^b, Françoise Diendéré^a, Claudine Buess-Herman^b,
Thomas Doneux^b

^aLaboratoire de chimie des matériaux et de l'environnement, Université Norbert Zongo
UFR/Sciences et Technologies (ST), BP 376 Koudougou, Burkina Faso

^bChemistry of Surfaces, Interfaces and nanomaterials, Faculté des Sciences, Université libre de Bruxelles (ULB),
Boulevard du Triomphe, 2, CP 255, B-1050 Bruxelles, Belgique

Résumé

Contexte

Les solvants eutectiques profonds (SEPs) sont une alternative intéressante aux solvants aqueux toxiques pour la récupération des métaux précieux en raison de leur non-toxicité et de leurs propriétés physico-chimiques adéquates.

Objectif

Etudier le comportement électrochimique du palladium (Pd) sur électrodes de carbone vitreux et d'or dans le chlorure de choline-urée (1 :2).

Méthodologie

Des mesures de voltampérométrie cyclique et de chrono-ampérométrie ont été réalisées à l'aide d'une cellule à trois électrodes plongées dans les SEPs.

Résultats acquis

Sur électrode de carbone vitreux, le dépôt de Pd nécessite une surtension significative. L'analyse des courants transitoires obtenus par mesures potentiostatiques met en évidence un contrôle cinétique par nucléation. Sur électrode d'or, la cinétique est accélérée en raison de la formation d'un dépôt en sous-tension.

Conclusion

La nature de l'électrode a une influence sur la nature des films électrodéposés. Le domaine de potentiel de dépôt du Pd métallique est notablement plus large qu'en milieu aqueux. Ce qui peut être mis à profit, pour une utilisation à finalité appliquée.

Perspectives

La caractérisation physico-chimique des dépôts réalisés est nécessaire pour accorder une importance industrielle à ces travaux.

Mots Clés : Electrochimie, Palladium, solvant eutectique profond, voltampérométrie cyclique, chronoampérométrie

Electrochemistry of palladium in deep eutectic solvents

Abstract

Context

Deep Eutectic Solvents (SEPs) are an alternative attractive electrolyte to toxic aqueous solvents for the recovery of precious metals due to their non-toxicity and adequate physico-chemical properties.

Object

Study of the electrochemical behavior of palladium (Pd) on glassy carbon and gold electrodes in the melt of choline chloride and urea.

Methodology

Cyclic voltammetry and chronoamperometry measurements have been performed in a three-electrode configuration.

Results

On a vitreous carbon electrode, the deposition of Pd requires a significant overvoltage. The analysis of the transient currents obtained by potentiostatic measurements highlights a kinetic control by nucleation. On a gold electrode, the kinetics is accelerated due to the formation of an undervoltage deposit.

Conclusion

The nature of the electrode influences the quality of the electrodeposited films. The potential range where Pd metal is deposited is significantly larger than in aqueous media. Which can be leveraged for applied purpose use.

Perspective

The physico-chemical characterization of the deposits films is necessary to give industrial importance to this work.

Keywords : Electrochemistry, Palladium, Deep Eutectic Solvent, Cyclic voltamperometry, Chronoampérométrie

1. Introduction

Le palladium est un élément métallique rare (0,015 ppm dans la croûte terrestre). Les gisements exploitables à un coût admissible seront épuisés en 2023 [1], même si le stock sur terre estimé en juin 2008 était de 3480 millions de tonnes. Les réserves connues sont surtout en Russie et en Afrique du Sud. Outre son usage en électronique (13%), il sert dans les pots catalytiques (45% de l'utilisation), dans la réalisation des prothèses dentaires (11%) et en joaillerie (20%) [2]. D'autres utilisations portent sur l'électrodéposition de Pd, pour les connecteurs et les composants de puces utilisés dans les circuits électroniques et les circuits intégrés hybrides. Le palladium fait partie des métaux du groupe du platine (MGP).

Le palladium et le platine sont les plus importants du groupe compte tenu de leur haute résistivité à la chaleur, qui font d'eux des composants clés des convertisseurs catalytiques. Généralement ils sont extraits comme sous-produits de l'exploitation du nickel [3]. Compte tenu de l'épuisement des sources naturelles de ces métaux, le recyclage est la seule issue à exploiter pour amortir partiellement la demande, qui ne va cesser de croître avec le développement des pays émergents [2]. De ce fait les e-déchets ou déchets d'équipements électriques et électroniques (DEEE) qui constituent une mine urbaine méconnue et inexploitée sont une source alternative à explorer.

En effet, selon les estimations, pour récupérer 1kg de métaux précieux, il faut 240 000 tonnes de minerais alors que 800 tonnes de déchets d'équipements électrique et électronique (DEEE) suffiraient pour obtenir la même quantité de métaux [4]. Cependant, il convient de noter que la récupération des métaux précieux présents dans les minerais tout comme dans les DEEE suit encore une voie impliquant des solutions cyanurées, non respectueuses de la protection l'environnement et de l'opérateur. Toutefois, certaines recherches visent l'utilisation de liquides ioniques, des solvants aux propriétés diverses susceptibles de présenter de grandes potentialités pour l'électrodéposition des métaux précieux [5]. Les mélanges eutectiques communément appelés « Deep Eutectics Solvents (DES) » (terme anglais) sont les plus prisés de cette classe de solvants. Ces DES sont essentiellement obtenus à partir d'un sel d'ammonium quaternaire et d'un donneur de pont hydrogène (acides, amides ou alcools) [6]-[7].

Ce travail a pour objectif de récupérer le Pd par électrodéposition à partir des DEEs. Des travaux de ce type ont été déjà examinés sur électrode de carbone vitreux dans des DES tels que le mélange de chlorure de choline et d'éthylène glycol (ChCl-EG), de chlorure de choline et d'urée (ChCl-urée) et de solutions de chlorure de 1-butyl-3-méthylimidazolium-tétrafluoroborate (BMIM-Cl-BF₄) [8].

Dans ce présent la contribution consiste à effectuer l'électrodéposition du palladium (Pd) sur GC et Au(Poly) en milieu chlorure de choline-urée. L'objectif est d'effectuer une étude comparative des voltampérogrammes cycliques du palladium sur ces deux électrodes dans un solvant non aqueux et écologique susceptible de remplacer les bains aqueux cyanurés ou généralement acides. Plus spécifiquement cette étude propose une alternative aux méthodes actuelles de récupération des métaux tels que le palladium.

2. Matériel et méthodes

2.1 Réactifs

Le chlorure de choline (Alfa Aesar, 98+%) a été recristallisé dans l'éthanol absolu et séché dans un dessiccateur avant toute utilisation. L'urée (VWR chemicals NORMAPUR, 99,8%) et le chlorure de palladium (II) (Alfa Aesar, 99,9%) ont été utilisés directement sans aucune purification.

2.2 Dispositif expérimental et méthode

Les mesures électrochimiques sont réalisées à 60°C, à l'aide d'une cellule à paroi surmontée d'un couvercle à cinq orifices permettant l'introduction de la pipette pasteur servant d'arrivage d'azote et des électrodes (électrodes de travail, électrode de référence, électrode auxiliaire). Les électrodes de la cellule sont reliées par de la connectique à l'autolab PGSTAT20 (Metrohm) qui est l'appareil de mesure électrochimique. Ce dernier est relié à son tour à un ordinateur muni du logiciel de traitement des données (NOVA 2.0). Le solvant (ChCl-U) est préalablement désoxygéné par bullage d'azote à l'aide d'une pipette pasteur dont la pointe trempe dans la solution électrolytique, pendant une vingtaine de minute avant les mesures électrochimiques. Entre deux expériences électrochimiques, l'électrode de

travail en carbone vitreux (BASi) ou en or polycristallin de surface respective égale à 0.0707 cm^2 et à 0.0201 cm^2 est polie à l'aide de particules (pâte) d'aluminium de diamètre $1 \mu\text{m}$, nettoyé dans un bain à l'ultrasons deux fois pendant 3 min, rincée à l'eau ultra pure puis séchée à l'azote. Le fil d'argent utilisé comme électrode pseudo référence est poli à l'aide d'un papier de polissage au carbure de silicium. La contre-électrode est rincée à l'eau milliQ puis passée dans une flamme incandescente avant chaque utilisation.

3. Résultats et discussion

Le comportement électrochimique du Pd(II) est étudié dans le milieu ChCl-U. Un dépôt en sous-tension (upd) du palladium sur électrode d'or (Figure 1) est mis en évidence pour la première fois dans les SEP (zone I). Le dépôt en masse de palladium est effectif en dessous de 0 V et ce jusqu'à -0,4 V (zone II) où une réponse cathodique attribuée à la formation d'hydrures de palladium est observée (zone III). Ainsi le palladium pur se dépose donc dans un domaine de potentiel large de 400 mV, notablement plus large qu'en milieu aqueux où les phénomènes d'ad/absorption et de réduction interviennent tôt.

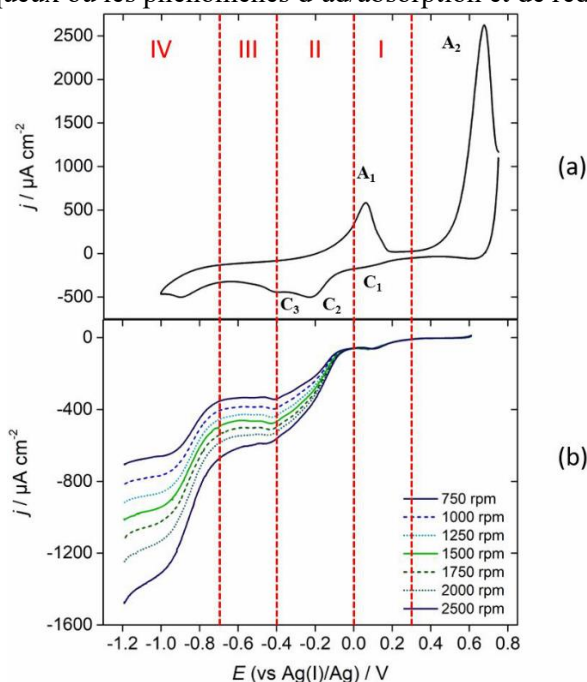


Figure 1 - Voltampérogrammes cycliques du système ChCl-U sur Au(poly) en présence de PdCl₂ 10 mmolal à une électrode d'or sans agitation, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ (a) et avec agitation à diverses vitesses angulaires, $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$ (b)

La Figure 2 montre l'influence de la limite négative en potentiel sur les courbes de voltampérométrie cyclique (CV) enregistrées sur carbone vitreux en milieu ChCl-U + 10 mmolal de PdCl₂ (a) et la CV d'une électrode de palladium dans ChCl-U (b). La réponse électrochimique relative aux chlorures de palladium est clairement identifiée dans le domaine d'inactivité du solvant (Figure 2a). Deux réponses cathodiques et deux réponses anodiques sont enregistrées. Elles sont toutes clairement liées à la présence du sel de Pd(II) dissous. Un premier pic cathodique (C₁) est observé aux environs de -0,35 V et une deuxième vague (C₂) qui commence à partir de -0,4 V est aussi présente. Des réactions réciproques aux deux précédentes réponses sont observées lors du balayage retour en oxydation, respectivement A₂ qui se dédouble en -0,13 V et 0,0 V, puis A₁ à 0,45. Contrairement aux résultats obtenus sur Au(poly) (Figure 1), aucun dépôt en sous tension n'est identifié sur l'électrode de carbone.

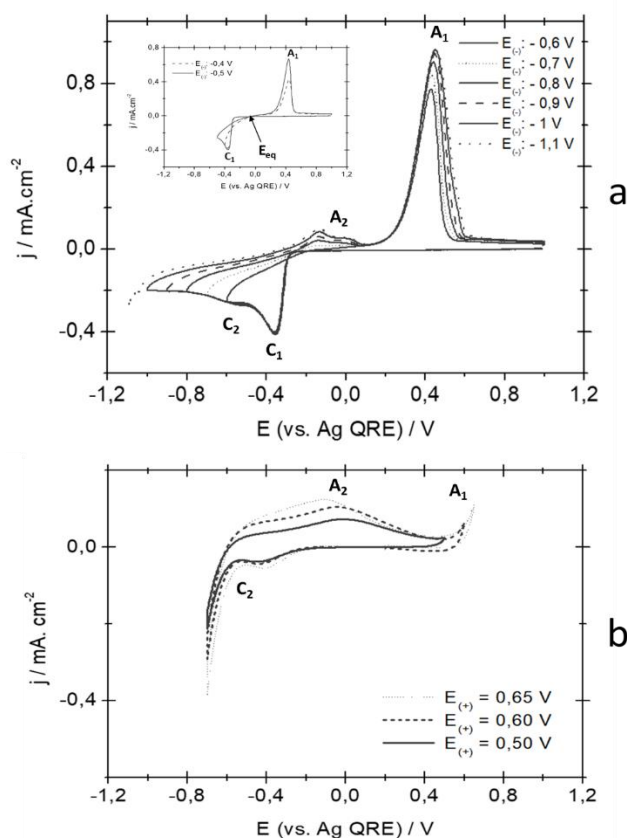


Figure 2 - (a) Voltampérogrammes cycliques (premier cycle) en milieu ChCl-U + 10 mmolal de PdCl₂ sur carbone vitreux, à potentiels négatifs croissants, $\nu = 50 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$, $T = 60 \text{ }^\circ\text{C}$. (b) Voltampérogrammes cycliques (premier cycle) du ChCl-U seul sur une électrode polycristalline de Palladium à potentiel positif croissant.

Les voltampérogrammes dans l’encart de la Figure 2a indiquent une augmentation de l’intensité du pic A₁ lorsque le potentiel d’inversion à la borne négative est compris entre -0,4 et -0,5 V. Le pic A₂ est absent, ce qui suggère que le pic A₁ traduit la dissolution d’un produit accumulé à la surface dès que le potentiel au balayage aller est plus négatif que -0,35 V (pic C₁). Les pics C₁ et A₁ sont donc liés et peuvent être attribués respectivement à la réduction du Pd(II) en Pd(0) et à la dissolution du Pd métallique. Ce processus impliquant deux électrons a pour équation simplifiée :



Le pic A₂ apparaît et s’amplifie pour des potentiels d’inversion plus négatifs (de -0,6 à -1,1 V). L’apparition de cette réponse anodique A₂ est donc liée aux processus cathodiques observés en-deçà de -0,5 V, c’est-à-dire à partir de l’apparition du pic C₂.

Pour conforter ces hypothèses, une analyse de densité de charge (Tableau 1) démontre que lorsque le potentiel d’inversion de la borne inférieure est compris entre -0,4 et -0,5 V, l’écart entre les densités de charge cathodiques et anodiques est inférieur ou égal à 0,04 mC cm⁻². Cette valeur négligeable confirme la dépendance entre les pics A₁ et C₁. A partir de -0,6 V, cette différence atteint 0,34 mC cm⁻² et augmente remarquablement lorsque le potentiel d’inversion est rendu de plus en plus négatif. Cette augmentation brusque et élevée peut être attribuée à la formation aux potentiels fortement négatifs d’hydrures de palladium par réduction de protons, qui influent sur la quantité d’espèces réduites directement disponibles pour l’oxydation au pic A₁. Cette analyse est cohérente avec la réoxydation au pic A₂ d’une partie des charges réduites avant celui du pic A₁. Le pic A₂ est donc lié au pic C₂.

Tableau 1 – Déviation standard des densités de charge cathodiques et anodiques en fonction du potentiel d’inversion de la borne inférieure. Avec $E_{(-)}$, le potentiel d’inversion de la borne négative et σ , la densité de charge échangée et $i(\text{Cath, Anod (A}_1))$.

$E_{(-)}$ (V)	$ \sigma_{\text{Cath}} $ (mC.cm ⁻²)	$ \sigma_{\text{Anod (A1)}} $ (mC.cm ⁻²)	$ \text{Ecart}_{\text{oi}} $ (mC.cm ⁻²)
-0,4	1,32	1,30	0,02
-0,5	1,98	1,94	0,04
-0,6	2,59	2,25	0,34
-0,7	3,14	2,60	0,54
-0,9	4,14	3,35	0,79
-1,1	6,20	4,62	1,58

Les ions chlorures étant connus pour former des complexes avec le Pd(II), nous pouvons comparer nos données avec celles obtenues par d'autres groupes dans des solutions contenant des anions chlorures. Suivant l'interprétation proposée pour les électrolytes HCl [9], [10], on peut considérer que C₂ est associé à la formation d'hydrures de palladium PdH_x par adsorption et absorption d'hydrogène, qui est désorbé aux potentiels A₂ dans les balayages retours. Les protons engagés dans la formation de PdH_x sont probablement générés à partir de l'eau résiduelle présente dans le milieu et/ou à celle de composants du solvant eutectique profond ou de ses produits de décomposition. Un support supplémentaire à cette attribution de pics est fourni par le CV d'une électrode de palladium dans ChCl-U (Figure 2b). Le voltampérogramme affiche une réponse cathodique et une réponse anodique à des potentiels proches de ceux des pics C₂ et A₂ respectivement, et le début de l'oxydation du palladium se produit dans la plage de potentiel d'apparition de A₁. Contrairement aux résultats relevés sur une électrode d'Au(poly) [11], aucune réaction liée à un dépôt en sous tension n'est observée sur GC.

La deuxième information relevée sur la Figure 2a indique la marque d'un dépôt dont la cinétique est contrôlée par une nucléation et croissance des germes de palladium. En effet, une boucle de nucléation caractéristique est observée lorsque le balayage de potentiel négatif est limité à -0,6 V. L'excursion à des potentiels plus négatifs que -0,5 V déclenche des phénomènes liés à l'hydrogène, qui peuvent affecter le dépôt de palladium métallique (voir l'apparition du pic C₂ et A₂ dans la Figure 2a). Ces résultats sont conformes à ceux relevés dans la littérature sur une électrode de carbone vitreux en milieux SEP [8], [12], [13]. A l'examen de la courbe présentant la boucle de nucléation, une estimation du potentiel d'équilibre du couple Pd(II)/Pd peut être obtenue comme le potentiel où le courant devient positif sur le balayage retour, soit $\approx -0,03$ V vs Ag QRE relevé dans ce cadre.

Des expériences potentiostatiques ont été menées sur GC pour mieux caractériser le processus de nucléation et croissance. Le potentiel de dépôt a été limité à -0,40 V (Figure 3a) pour éviter la contribution d'ad/absorption de l'hydrogène dans le courant transitoire mesuré. La Figure 3b montre une série de courbes potentiostatiques j-t enregistrées à différents potentiels dans la région de dépôt de Pd pur en milieu de ChCl-U avec 10 mmolal de PdCl₂ à 60 °C. Tous les transitoires ont obtenu sont typique d'un phénomène de nucléation et croissance.

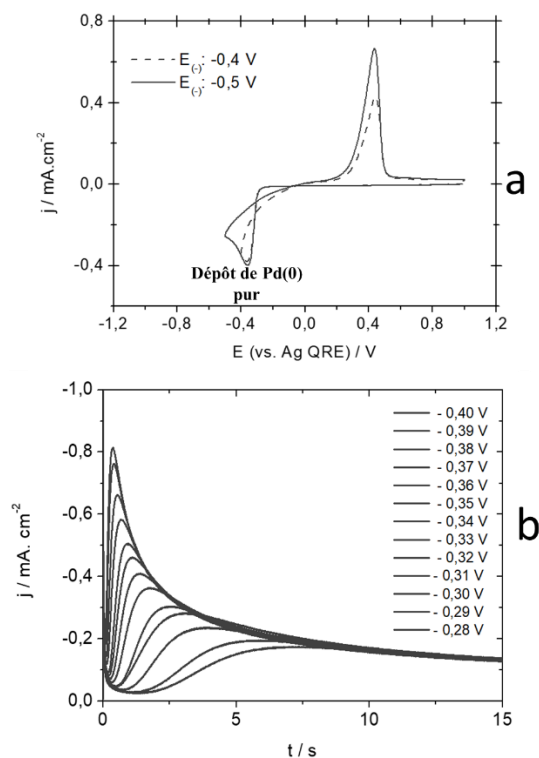


Figure 3 – (a) : Voltampérogrammes cycliques enregistrés avant et les chrono-ampérogrammes et (b) : Transitoires expérimentaux de densité de courant enregistrés à partir de ChCl-U avec 10 mmolal de PdCl_2 à 60 °C après un saut de potentiel de 0 V vers divers potentiels finaux indiqués dans la légende

Des maxima de courant sont observés, se produisant à des temps plus courts à mesure que la surtension augmente. Tous les transitoires convergent à des temps plus longs vers le comportement limite décrit par l'équation de Cottrell. A partir de la pente du tracé j vs $t^{1/2}$, un coefficient de diffusion moyen de $1,7 \times 10^{-7} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ a été calculé pour les ions Pd(II) à 60 °C. Auparavant, Lanzinger et al. [8] ont estimé les coefficients de diffusion de Pd(II) dans ChCl-U et des valeurs de $3,57 \times 10^{-7} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ et $7,55 \times 10^{-7} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ ont été rapportés à 75 °C et 100 °C respectivement. Ces valeurs plus élevées par rapport à celle calculée dans ce présent travail sont à mettre en rapport avec la diminution de la viscosité du milieu d'étude à des températures rendues plus élevées.

Une analyse plus approfondie des transitoires a été réalisée dans le cadre du traitement de Scharifker et Hills [14]. La Figure 4 présente le tracé adimensionnel des transitoires expérimentaux montrés sur la Figure 3b ainsi que les courbes prédites respectivement pour le modèle classique de nucléation progressive (Equation 2) et instantanée (Equation 3) 3D avec croissance contrôlée par diffusion.

$$\left(\frac{j}{j_{\text{max}}}\right)^2 = 1,2254 \left(\frac{t}{t_{\text{max}}}\right)^{-1} \left[1 - \exp\left(-2,3367 \left(\frac{t}{t_{\text{max}}}\right)^2\right)\right]^2 \quad (\text{Equation 2})$$

$$\left(\frac{j}{j_{\text{max}}}\right)^2 = 1,9542 \left(\frac{t}{t_{\text{max}}}\right)^{-1} \left[1 - \exp\left(-1,2564 \frac{t}{t_{\text{max}}}\right)\right]^2 \quad (\text{Équation 3})$$

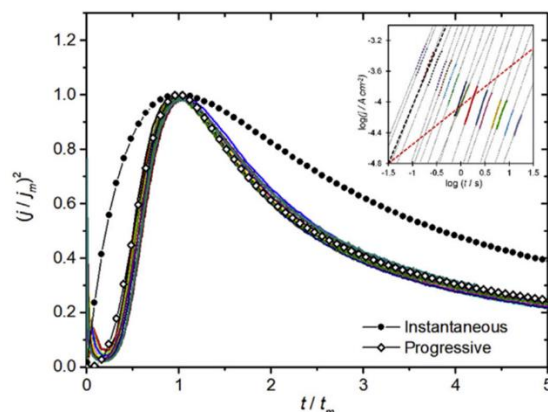
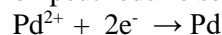


Figure 4 - Tracé non dimensionnel des transitoires de densité de courant pour le dépôt de Pd à partir de 10 mmolales de PdCl₂ dans ChCl-U à T 60 °C. Encart : tracé bilogarithmique des parties ascendantes des transitoires dimensionnels ; la ligne rouge a une pente de 1/2 et la ligne noire une pente de 3/2.

Ces données démontrent clairement qu'un processus de nucléation progressif se déroule à tous les potentiels de dépôt étudiés. Cela est également confirmé par la valeur de la pente des courbes $\log(j)$ vs $\log(t)$ des parties ascendantes des transitoires (Encadré sur la Figure 4), qui est très proche de 3/2 (droite noire en trait discontinu), comme prédit pour un phénomène de nucléation progressive.

4. Conclusion

Ce travail nous a permis de faire une étude comparative des voltampérogrammes cycliques du palladium sur ces deux électrodes. Il ressort de cette étude que le palladium a un comportement cathodique nettement différent sur les deux substrats utilisés. Indépendamment de l'électrode de travail, on peut réduire sélectivement le palladium (II) en palladium métallique Pd(0) selon l'équation :



Ce résultat montre donc qu'il est possible séparer sélectivement le palladium de ces hydrures dans le SEP ChCl-U et ceci dans un domaine de potentiel large par rapport au milieu aqueux.

Par ailleurs sur GC, les réactions sont cinétiquement lentes avec un contrôle par nucléation et croissance, tandis que sur Au(poly) la présence de l'udp brise la barrière de nucléation. Pour des applications industrielles où les facteurs qualité de dépôt du matériau et le coût du substrat sont capitaux il sera intéressant de travailler sur GC où le dépôt produira des nanoparticules comme l'indique la cinétique de dépôt.

5. Bibliographie

- [1] J. Halloy, "L'épuisement des ressources minérales et la notion de matériaux critiques," *La Rev. Nouv.*, vol. N° 4, no. 4, pp. 34–40, 2018, doi: 10.3917/rn.184.0034.
- [2] "Le palladium : les gisements exploitables à un coût admissible seront épuisés en 2023," <https://www.terresacree.org/palladium.htm> .
- [3] U. F. Md Ali, "Electrochemical Separation and Purification of Metals from Waste Electrical and Electronic Equipment (WEEE)," PhD Thesis, Imperial college, London, 2011.
- [4] M. Rouamba, "LES ATELIERS DU BOCAGE : UN ECO-ORGANISME AU SERVICE DE L' ENVIRONNEMENT DU BURKINA FASO," 2011.
- [5] A. Frank Endres, Andrew Abbott and DouglasMacFarlane, *Electrodeposition from Ionic Liquids*. 2008.
- [6] A. Abbott, "Deep Eutectic Solvents."
- [7] L. I. N. Tomé, V. Baião, W. da Silva, and C. M. A. Brett, "Deep eutectic solvents for the production and application of new materials," in *Applied Materials Today*, vol. 10, 2018, pp. 30–50.
- [8] G. Lanzinger, R. Böck, R. Freudenberger, T. Mehner, I. Scharf, and T. Lampke, "Electrodeposition of palladium films from ionic liquid (IL) and deep eutectic solutions (DES): physical–chemical characterisation of non-aqueous electrolytes and surface morphology of palladium deposits," *Trans. IMF*, vol. 91, no. 3, pp. 133–140, 2013, doi: 10.1179/0020296713Z.00000000097.
- [9] T. K. Bhardwaj, "Cyclic voltammetric studies for the electrochemical determination of palladium in high-level nuclear waste," *Int. J. Nucl. Energy Sci. Technol.*, vol. 7, no. 2, pp. 121–130, 2012, doi:

- 10.1504/IJNEST.2012.048806.
- [10] S. Gu, X. P. Wang, Y. Z. Wei, and B. Z. Fang, "Mechanism for nucleation and growth of electrochemical deposition of palladium(II) on a platinum electrode in hydrochloric acid solution," *Sci. China Chem.*, vol. 57, no. 5, pp. 755–762, 2014, doi: 10.1007/s11426-013-5026-2.
- [11] Rayée Q, "'Dépôts électrochimiques d'argent, de palladium et d'alliages argent-palladium en solvants eutectiques profonds'," Thèse de doctorat, ULB faculté des Sciences Chimiques (Université Libre de Bruxelles), 2020.
- [12] M. Manolova and R. Böck, "Electrodeposition of Pd from a deep eutectic solvent system: effect of additives and hydrodynamic conditions," *Trans. Inst. Met. Finish.*, vol. 97, no. 3, pp. 161–168, 2019, doi: 10.1080/00202967.2019.1605755.
- [13]. I. E. Espino-López *et al.*, "Palladium Nanoparticles Electrodeposition onto Glassy Carbon from a Deep Eutectic Solvent at 298 K and Their Catalytic Performance toward Formic Acid Oxidation," *J. Electrochem. Soc.*, vol. 166, no. 1, pp. D3205–D3211, 2018, doi: 10.1149/2.0251901jes.
- [14] B. Scharifker and G. Hills, "Theoretical and experimental studies of multiple nucleation," *Electrochim. Acta*, vol. 28, no. 7, pp. 879–889, 1983, doi: 10.1016/0013-4686(83)85163-9.

Synthèse, détermination structurale de nouveaux base de Schiff carbonohydrzones et leurs complexes 3d et 4f : Etude des propriétés biologiques et physiques

Thierno Moussa Seck^{1*}, Ousmane Diouf¹, Mamour Sarr¹, Abdou Salam Sall¹, Mohamed Lamine Gaye¹.

1Université Cheikh Anta Diop, FST, Dakar, Sénégal.

* thiernomoussa.seck@yahoo.fr

Résumé : Les bases de schiff carbonohydrazone sont très recherchées en biochimie et en chimie de coordination en raison de leurs potentielles applications. Le problème de la chimie des carbonohydrzones est de trouver une méthode de synthèse des carbonohydrzones dissymétriques. Ainsi beaucoup de chercheur sont à la recherche d'une méthode de synthèse pour accéder à ces composés. Pour apporter des solutions à cette demande scientifique, nous avons fixé comme objectifs : Mettre en place une méthode de synthèse efficace et reproductible des carbonohydrzones symétriques et dissymétriques, étudier leurs réactivités vis-à-vis des ions 3d et 4f. Afin d'étudier leurs propriétés antioxydantes et les propriétés magnétique et luminescente des composés inorganiques qu'ils dérivent. Les résultats obtenus dans ce travail sont très satisfaisantes puisque nous avons mis en place une méthode de synthèse reproductible des bases de Schiff carbonohydrzones avec des rendements élevés. En plus l'étude des propriétés antioxydantes a montré l'importance de ces composés dans le domaine biologie puisque le composé H₄L₁ présente des propriétés antioxydantes importantes à faible concentration. Nous avons vu également leur importance en chimie de coordination car ils ont permis comme ligands pour synthétiser quatre complexes 3d et 4f. L'étude des propriétés physiques a révélé que le complexe [Zn₄(HL₃)₄](NO₃)₄·2(H₂O) présente des propriétés fluorescentes importantes et le complexes [Co₂(HL₃)₂(μ-OH)]Cl₂·3(H₂O) se comporte comme une molécule aimant. En perspective nous compterons étudier les propriétés luminescentes et magnétiques du complexe [Dy₄(HL₃)₄O₄]·H₂L₃·H₂O.

Mots clés : Carbonohydrazone, antioxydante, fluorescence et magnétique

Title

Synthesis, structural determination of new Schiff base carbonohydrzones and their 3d and 4f complexes: Study of biological and physical properties

Abstract: Carbonohydrazone schiff bases are highly sought after in biochemistry and coordination chemistry due to their potential applications. The problem in carbonohydrazone chemistry is to find a method of synthesizing unsymmetrical carbonohydrzones. Thus many researchers are looking for a synthetic method to access these compounds. To provide solutions to this scientific request, we have set the following objectives: Implement an efficient and reproducible method of synthesis of symmetrical and asymmetrical carbonohydrzones, study their reactivity with respect to 3d and 4f ions. To study their antioxidant properties and the magnetic and luminescent properties of the inorganic compounds they derive. The results obtained in this work are very satisfactory since we have set up a method of reproducible synthesis of Schiff bases carbonohydrzones with high yields. In addition, the study of antioxidant properties has shown the importance of these compounds in the biology field since the compound H₄L₁ has significant antioxidant properties at low concentration. We also saw their importance in coordination chemistry because they allowed as ligands to synthesize four complexes 3d and 4f. The study of the physical properties revealed that the complex [Zn₄(HL₃)₄](NO₃)₄·2(H₂O) exhibits significant fluorescent properties and the complex [Co₂(HL₃)₂(μ-OH)]Cl₂·3(H₂O) behaves like a magnet molecule. In perspective we will study the luminescent and magnetic properties of the complex [Dy₄(HL₃)₄O₄]·H₂L₃·H₂O

Keywords: Carbonohydrazone, antioxidant, fluorescence and magnetic

1. INTRODUCTION

Les bases de schiff carbonohydrazone sont très recherchées en biochimie [1-3] et en chimie de coordination en raison de leurs propriétés antimicrobienne, antifongique, anti-inflammatoire, antitumeur et leurs réactivités vis-à-vis des sels de métaux de transition et de lanthanide [4-7]. Dans ces composés, ils se comportent comme des ligands hexadentate, pentadentates et tridentate et également ils peuvent adopter une configuration Cis-énol ou S-trans. Le problème de la chimie des carbonohydrzones est de mettre en place une méthode de synthèse des composés carbonohydrazone dissymétrique à cause de la même réactivité du réactif carbohydrazine [8, 9]. Ainsi beaucoup de chercheurs sont à la recherche d'une méthode de synthèse pour accéder à ces types de composés. Pour contribuer au développement de la chimie moléculaire, nous avons fixé comme objectifs :

- ❖ Mettre en place une méthode de synthèse efficace, reproductible et accessible des composés carbonohydrzones symétriques et dissymétriques.
- ❖ Etudier leurs réactivités vis-à-vis des ions 3d et 4f.
- ❖ Afin d'étudier leurs propriétés biologiques tel que les propriétés antioxydantes et les propriétés physiques tels que le magnétisme et la luminescence des composés inorganiques qu'ils dérivent.

2. MATERIELS ET METHODES

Les réactifs chimiques (organiques ou inorganiques) et les solvants utilisés pour synthétiser les bases de Schiff carbonohydrzones et leurs complexes de métaux de transition et de lanthanide sont listés dans le tableau 1. Ils sont d'origine Aldrich et sont utilisés directement sans aucune purification au préalable. Les points de fusion ont été déterminés avec un appareil de fusion Büchi 570. Les analyses élémentaires de C, H et N ont été enregistrées sur un instrument VxRio EL. Les spectres IR ont été enregistrés sous forme de disques KBr sur un Perkin Elmer Spectrophotomètre Spectrum entre 4000–400 cm^{-1} . Les spectres RMN ^1H et RMN ^{13}C ont été acquis en solution DMSO- d_6 en utilisant le spectromètre Bruker AMX avec tétraméthylsilane (TMS) comme étalon interne. La conductance molaire d'une solution 10^{-3} M a été mesurée à 25 °C à l'aide d'un conductimètre WTW LF-330. Les spectres UV-Visible ont été enregistrés sur un Perkin Spectrophotomètre Elmer Lambda UV-Vis. Les mesures de l'activité antioxydant des bases de Schiff carbonohydrzones ont été effectuées en utilisant la méthode d'inhibition du radical DPPH en présence du Trolox comme référence positif. Les spectres de fluorescence ont été enregistrés sur un Perkin Elmer Spectrofluorimètre LS-55 à température ambiante (298 K). Les mesures magnétiques à température variable sont effectuées sur un magnétomètre SQUID.

Tableau 8 : Réactifs et solvants utilisés pour synthétiser les bases de Schiff carbonohydrzones et leurs complexes 3d et 4d

Réactifs organique	Réactifs inorganique	Solvant
Carbohydrazide	Nitrate de zinc(II) hexahydraté	Méthanol
2-Acétylpyridine	Chlorure de cobalt(II) hexahydraté	Acétonitrile
Ortho-vanilline	Chlorure de cuivre(II) hexahydraté	Eau
Acide acétique glacial	Chlorure de sodium	
	Chlorure de Dysprosium (III) hexahydraté	

2.1. Synthèse du ligand 1-(1'-pyridylméthylidène)carbonohydrazide (H_4L_1)

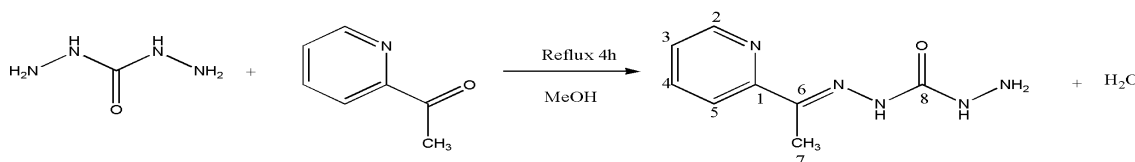


Schéma 4 : Synthèse du ligand 1-(1'-pyridylméthylidène)carbonohydrazide (H_4L_1)

Mode opératoire :

On dissout dans un ballon contenant un mélange de 20 mL de méthanol et 10 mL d'eau distillée 3 g (0,0333 mol) de carbonohydrzide. On y ajoute goutte à goutte toute la solution de méthanol contenant 4 g (0,0330 mmol) d'acétylpyridine (la durée de l'ajout est environ d'une demie journée). On a maintenu le mélange à reflux pendant quatre heures. On observe l'apparition d'un précipité blanc. Ce précipité est filtré à chaud, lavé avec du méthanol à chaud (2 x 10 mL) puis séché sous P_2O_5 . La pureté du produit est vérifiée par chromatographie sur couche mince (CCM) en utilisant des plaques en gel de silice, l'éluant étant un mélange méthanol /dichlorométhane avec un rapport de 9/1 (V/V). Le filtrat placé au frigo donne des cristaux blancs dont la diffraction des rayons X nous a permis d'élucider la structure cristalline du ligand. Les cristaux et le précipité ont la même température de fusion. $T_f = 222$ °C ; Masse : 5,508 g soit un rendement de 86,37 % ; **Anal. El [Trouvé (calculé)]** : % C = 58,04 (58,53) ; % H = 4,55 (4,91) ; % N = 16,98 (17,06) ; **IR (cm^{-1})** : 3306 ; 3086 ; 1671 ; 1629 ; 1578 ; 1506 ; 1466 ; 1141 ; **RMN ^1H ($dms\text{-}d_6$, δ en ppm)** : 2,36 (s, 3H, CH_3) ; 4,12 (s, 2H, NH_2) ; 7,32 – 8,51 (m, 4H, H_{PY}) ; 8,19

(s, 1H, N-H) ; 9,64 (s, 1H, N-H), **RMN**¹³C (*dms**o*-*d*₆, δ en ppm) : 157,32 (C-8) ; 155,30 (C-5) ; 148,37 (C-1) ; 145,45 (C-6) ; 136,43 (C-3) ; 123,47 (C-2) ; 120,13 (C-4) ; 11,03 (C-7).

2.2. Synthèse du ligand 1-(2'-hydroxy-3-méthoxybenzylidène)-5-5(1'-pyridyléthylidène) carbonohydrazone (H₃L₂)

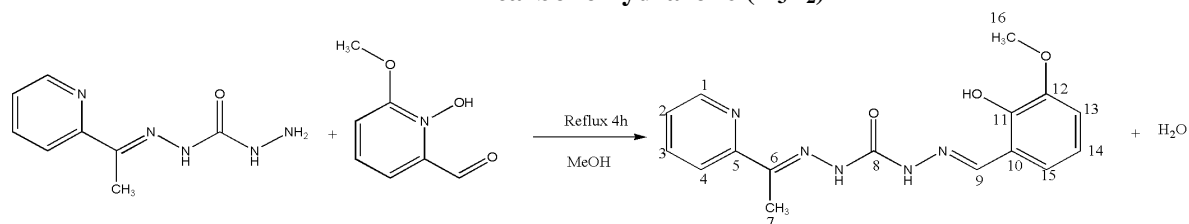


Schéma 5 : Synthèse du ligand 1-(2'-hydroxy-3-méthoxybenzylidène)-5-5(1'-pyridyléthylidène) carbonohydrazone (H₃L₂)

Mode opératoire :

Introduire dans un ballon de 100 mL contenant 20 mL de méthanol 1 g (0,00518 mol) du ligand H₄L₁. On obtient une suspension dans laquelle on ajoute une solution de méthanol contenant 1,1822 g (0,00777 mol) d'ortho-vanilline et 10 mL de méthanol. Le mélange est porté à reflux pendant 30 minutes. La suspension demeure toujours et disparaît lorsqu'on y ajoute quelques gouttes d'acide acétique glacial. On chauffe le mélange pendant quatre heures. On obtient une solution jaune limpide qui précipite après refroidissement au réfrigérateur. Le précipité est récupéré par filtration, lavé avec du méthanol à froid (2 x 10 mL) pour éliminer l'excès d'ortho-vanilline avant d'être séché sous P₂O₅. Le filtrat au frigo a donné des cristaux blancs dont la diffraction des rayons X nous a permis de déterminer la structure cristalline du ligand. Les cristaux et le précipité ont la même température de fusion. T_f ° = 195-200 °C ; Masse : 2,292 g soit un rendement de 73,72 % ; **Anal. El [Trouvé (calculé)]** : % C = 55,85 (55,16) ; % H = 5,42 (6,37) ; % N = 19,90 (20,10) ; **IR (cm⁻¹)** : 3245 ; 3198 ; 3094 ; 1671 ; 1616 ; 1573 ; 1532 ; 1468 ; 1374 ; 1249 ; 1201 ; 1132 ; **RMN**¹H (*dms**o*-*d*₆, δ en ppm) : 2,36 (s, 3H, CH₃) ; 3,82 (s, 3H, O-CH₃) ; 6,86 – 7,1 (m, 3H, Har) ; 7,38 – 8,64 (m, 4H, H_{PY}) ; 8,5 (s, 1H, N=C-H) ; 10,86 (s, 2H, N-H) ; 10,09 (s, 1H, O-H_{phénolique}) ; **RMN**¹³C (*dms**o*-*d*₆, δ en ppm) : 155,22 (C-8) ; 152,55 (C-5) ; 148,87 (C-11) ; C-12) ; 148,40 (C-1) ; 147,24 (C-6) ; 136,96 (C-9) ; 119,4-136,6 (C-2 ; C-3 ; C-4 ; C-10 ; C-13 ; C-14 et C-14) ; 56,28 (C-16) ; 12,08 (C-7).

2.3. Synthèse du ligand N,N'-1,5-bis(2'-acétylpyridinyl)carbonohydrazone (H₂L₃)

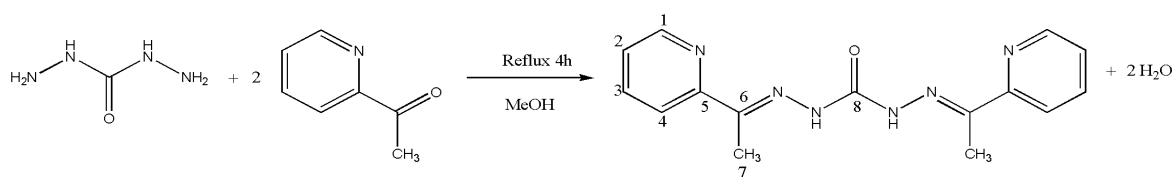


Schéma 6 : Synthèse du ligand N,N'-1,5-bis(2'-acétylpyridinyl)carbonohydrazone (H₂L₃)

Mode opératoire :

Introduire dans un ballon contenant 20 mL de méthanol, 2 g (0,0222 mol) de carbonohydrate. Après reflux de 30 minutes, on y ajoute une solution de méthanol contenant 10,57 g (0,0888 mol) de 2-acétylpyridine en excès. On ajoute encore quelques gouttes d'acide acétique glacial dans le ballon puis on chauffe pendant deux heures. On obtient une solution incolore, qui précipite après refroidissement. Le précipité est récupéré par filtration, lavé avec du méthanol à froid (2 x 10 mL) pour éliminer l'excès de 2-acétylpyridine puis séché sous P₂O₅. La recristallisation du produit dans le méthanol à chaud a donné des monocristaux appropriés pour la diffraction des rayons X. T_f ° = 195 °C ; Masse : 5,42 g, soit un rendement de 88,5 % ; **Anal. El [Trouvé (calculé)]** : % C = 60,83 (60,80) ; % H = 5,48 (5,44) ; % N = 28,32 (28,36) ; **IR (cm⁻¹)** : 3415 ; 3206 ; 3061 ; 1681 ; 1612 ; 1577 ; 1558 ; 1466 ; 1429 ; 1207 ; 1149 ; **RMN**¹H (*dms**o*-*d*₆, δ en ppm) : 2,36 (s, 6H, CH₃) ; 7,38 – 8,6 (m, 8H, H_{PY}) ; 8,7 (s, 2H, N-H) ;

10,1 (s, 1H, O-H iminol). RMN ¹³C (dmso-d₆, δ en ppm) : 153 (C-8') ; 155,4 (C-8) ; 152,1 (C-5) ; 120,4 (C-4) ; 137,0 (C-3) ; 124,2 (C-2) ; 149,1 (C-1) ; 147,9 (C-6) ; 11,9 (C-7) ; 22,8 (C-7').

2.4. Synthèse des complexes 3d et 4f ou composés de coordination

Le protocole de synthèse est le même pour les trois complexes obtenus.

Dans un ballon de 100 mL contenant 10 mL du méthanol, on dissout 1mmol du ligand carbonohydrazone. On y ajoute une solution de méthanol contenant 1 mmol du sel métallique. Le mélange est agité à la température ambiante pendant une heure. On obtient une solution qui est filtrée et le filtrat est placé en évaporation lente. Au bout d'une à deux semaines, les filtrats ont données des monocristaux dont l'analyse de diffraction aux rayons nous ont permis d'élucider la structure cristalline de chaque complexe.

Tableau 9 : Aspect, température de fusion et rendements des complexes obtenus

Sels métalliques	Aspect	Evaporation lente	Tf (°C)	Rdt (%)
Zn(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	Solution jaune	Cristaux jaunes	>260	78,7
CoCl ₂ .6H ₂ O	Solution marron	Cristaux marron	>260	61,8
Cu(ClO ₄) ₂ .6H ₂ O	Solution verte	Cristaux verts	>260	83,4
DyCl ₃ .6H ₂ O	Solution orange	Cristaux orange	>260	54,8

3. RESULTATS ET DISCUSSIONS

3.1. Etude RMN ¹H des bases de Schiff carbonohydrazone dissymétrique H₄L₁ et H₃L₂

Sur le spectre RMN ¹H du ligand H₄L₁, nous notons un signal intégrant deux protons attribuable au signal des protons du groupement NH₂. Sa présence montre que la formation du ligand H₄L₁ [9]. Sa disparition et l'apparition du signal du proton iminique (s, 1H, N=C-H) à 8,52 ppm sur le spectre RMN ¹H du ligand H₃L₃. Ces deux informations prouvent la formation du ligand dissymétrique H₃L₃.

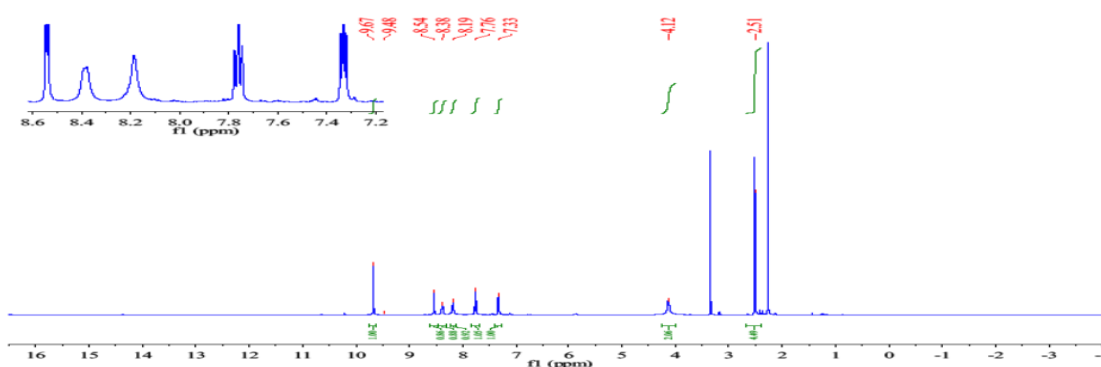


Figure 29 : Spectre RMN ¹H du ligand H₄L₁

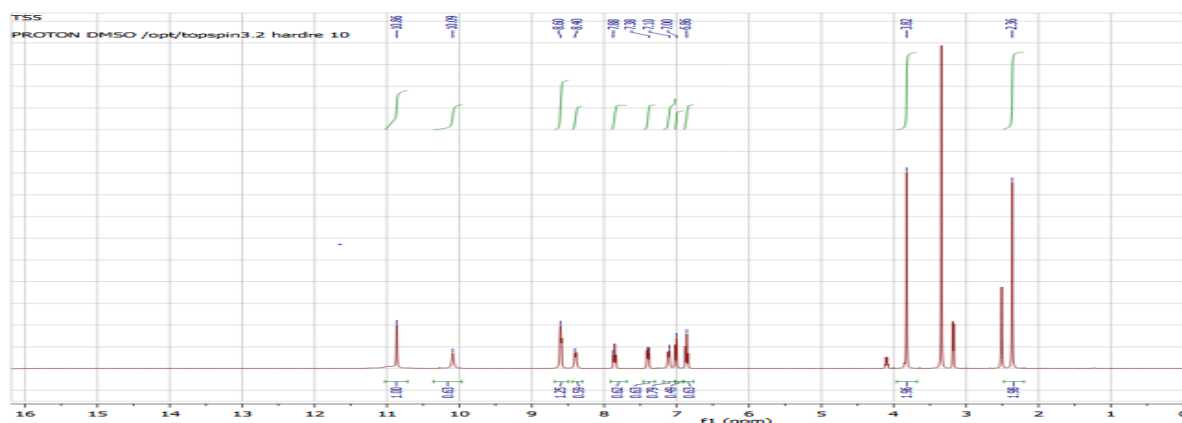


Figure 30 : Spectre RMN ¹H du ligand H₄L₁

L'analyse de la diffraction des rayons X, nous ont permis d'élucider les structures cristallines des trois bases de Schiff carbonohydrazones symétrique et dissymétriques. Elles sont représentées ci-dessous :

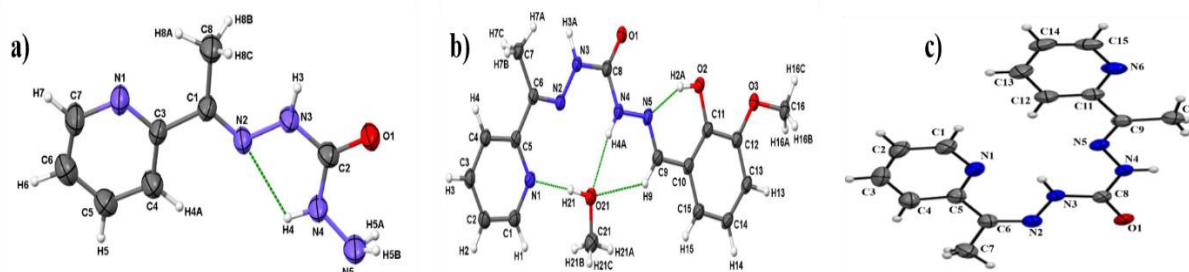


Figure 31 : a) structure cristalline du ligand H₄L₁ b) structure cristalline du ligand H₃L₂ c) structure cristalline du ligand H₂L₃

3.2. Etude IR, UV-visible, conductimétrie et mesure de la susceptibilité magnétique des complexes de Zinc, cobalt, cuivre et dysprosium

Les données infrarouges des ligands et celle des complexes qu'ils dérivent sont répertoriées dans le tableau ci-après :

Composés	(ν _{O-H})	(ν _{C=O})	(ν _{C=N})	(ν _{C=N}) _{py}	(ν _{N-H})	ν(NO ₃)	(ν _{C-O})
H ₂ L ₃	-	1681	1612	1577	3206	-	-
H ₄ L ₁	-	1671	1629	1578	3306	-	-
H ₃ L ₂	3245	1671	1616	1573		-	1249
[Zn ₄ (HL ₃) ₄](NO ₃) ₄ ·2(H ₂ O)	-		1573	1547	3157	1354	1301
[Co ₂ (HL ₃) ₂ (μ-OH)]Cl ₂ ·3(H ₂ O)	-	1684	1599	1543	3153	-	-
[Cu ₂ (HL ₂)(H ₂ O)Cl] ₂ ·2(ClO ₄)·2H ₂ O	3300		1598	1564	3174	-	1304
[Dy ₄ (HL ₃) ₄ O ₄]·H ₂ L ₃ ·H ₂ O	-	1685	1582	1546	3195	-	-

En comparant les spectres des ligands et ceux des complexes, nous notons un déplacement vers les basses fréquences des bandes de vibration ν_{C=N} des fonctions imines et pyridiniques des ligands lors de leurs complexations avec les ions métalliques. Ceci est une preuve de la coordination des atomes d'azote pyridiniques et iminiques des ligands [10,11]. En plus de cela, nous observons une iminolisation des ligands H₂L₁ et H₃L₇ lors de leur réaction de complexation [12,13]. Ceci est confirmé par la disparition totale de la bande de vibration ν_{C=O} de leurs fonctions carbonyles. La bande de vibration observée à 1354 cm⁻¹ sur le spectre du complexe de zinc(II) est attribué à la bande des ions nitrate libre.

Les valeurs de la conductivité molaire de la solution fraîche d'acétonitrile contenant les complexes et après quinze jours de conservation sont répertoriés dans le tableau 3. Elle montre que les complexes de cuivre et de cobalt sont des électrolytes de type 2 : 1, le complexe de zinc(II) est un électrolyte de type 4 : 1 et le complexe de dysprosium(III) est neutre [14]. La faible variation de ces valeurs au bout de quinze jours montre qu'ils sont stables en solution dans l'acétonitrile.

Sur les spectres UV-visible de tous les complexes, apparaissent des bandes repérées dans les intervalles 256-275 nm, 357-377 nm et à 451-470 nm. Elles correspondent respectivement aux transitions $\pi \rightarrow \pi^*$, $n \rightarrow \pi^*$ des ligands et de transfert de charge ligand-métal (TCLM). Outre ces bandes sur le spectre du complexe de cobalt, nous notons deux bandes d'absorption à 510 nm et 680 nm. Elles correspondent aux bandes de transition $d \rightarrow d$ d'un ion de cobalt dans un environnement octaédrique [15]. Sur le spectre du complexe de cuivre, nous observons une bande large à 523 nm, elle peut être attribuable à la bande de transition $d \rightarrow d$ d'un ion de cuivre pentacoordiné ou tétracoordiné [16]. La valeur du moment magnétique du complexe de cobalt est égale de 5,3 MB et celle du complexe de cuivre(II) est de 3,33 MB. Ces valeurs montrent que le complexe de cobalt se comporte magnétiquement comme un complexe mononucléaire et celui du cuivre un dinucléaire présentant une interaction antiferromagnétique [17].

Tableau 10 : Données conductimétriques des complexes obtenus

Complexes	Λ (S.cm ² .mol ⁻¹) fraîche	Λ (S.cm ² .mol ⁻¹) après 15 jours	Electrolyte
[Zn ₄ (HL ₃) ₄](NO ₃) ₄ ·2(H ₂ O)	414	426	4 : 1
[Co ₂ (HL ₃) ₂ (μ-OH)]Cl ₂ ·3(H ₂ O)	144	147	2 : 1
[Cu ₂ (HL ₂)(H ₂ O)Cl] ₂ ·2(ClO ₄)·2H ₂ O	154	158	2 : 1
[Dy ₄ (HL ₃) ₄ O ₄]·H ₂ L ₃ ·H ₂ O	12	14	Neutre

Tableau 11 : Données UV-visible et mesure de la susceptibilité magnétique des complexes obtenus

Complexes	Longueur d'onde (nm)	Attributions	μ_{eff} (MB)
[Zn ₄ (HL ₃) ₄](NO ₃) ₄ ·2(H ₂ O)	273, 357	$\pi \rightarrow \pi^*$ et $n \rightarrow \pi^*$	-----
	451	TCLM	
[Co ₂ (HL ₃) ₂ (μ-OH)]Cl ₂ ·3(H ₂ O)	275, 377	$n \rightarrow \pi^*$ et $n \rightarrow \pi^*$	5,3
	452	TCLM	
	510, 680	$d \rightarrow d$	
[Cu ₂ (HL ₂)(H ₂ O)Cl] ₂ ·2(ClO ₄)·2H ₂ O	256, 362	$\pi \rightarrow \pi^*$ et $n \rightarrow \pi^*$	3,33
	470	TCLM	
	523 (très large)	$d \rightarrow d$	

3.3. Etude cristallographique des complexes 3d et 4f obtenus

Le complexe [Zn₄(HL₃)₄](NO₃)₄·2(H₂O) cristallise dans le système tétragonal avec comme groupe d'espace respectif I41/a. Les paramètres de la maille élémentaire sont a = b = 14,0254 (2) Å, c = 35,7967 Å, $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$ et R1 = 0,0438. L'analyse des résultats de la diffraction des rayons X montre que l'unité asymétrique est un tétranucléaire composé d'une entité cationique, quatre ions de nitrate assurant la neutralité et deux molécules d'eau de recristallisation. L'entité cationique est constituée de quatre molécules du ligand et quatre ions de zinc(II). Chaque ligand est pentadentate, monodéprotonné et se lie via deux atomes d'azote iminiques, deux atomes d'azote pyridiniques et un

atome d'oxygène carbonyle. Les ions de zinc(II) sont reliés deux à deux par des pont μ -O. L'environnement autour de chaque zinc(II) est décrit comme un octaèdre.

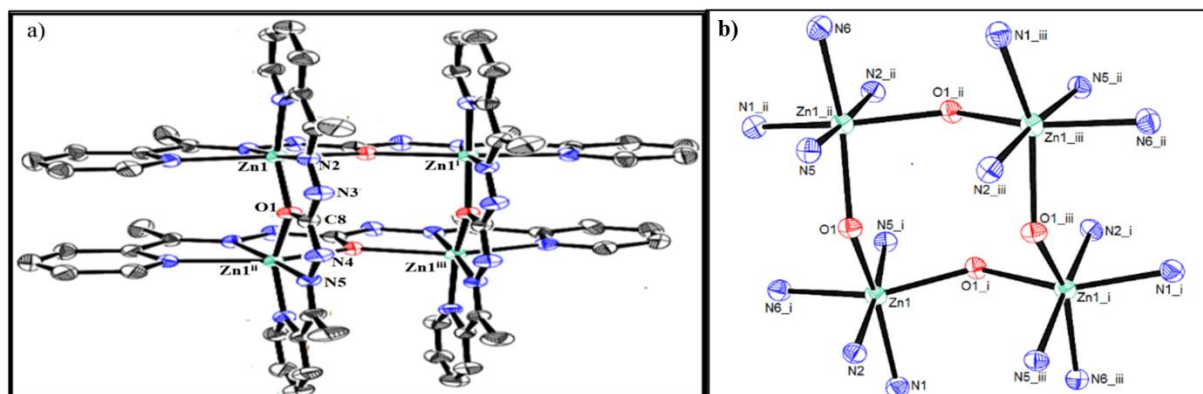


Figure 32 : a) Structure cristalline du complexe $[Zn_4(HL_3)_4](NO_3)_4 \cdot 2(H_2O)$ b) polyèdre de coordination autour des ions Zn(II)

L'analyse par diffraction aux rayons X montre que le complexe $[Co_2(HL_3)_2(\mu-OH)]Cl_2 \cdot 3(H_2O)$ cristallise dans le système monoclinique avec le groupe d'espace P21/c. Les paramètres de la maille élémentaire sont : $a = 11,5812(3) \text{ \AA}$, $b = 22,1819(5) \text{ \AA}$, $c = 15,1687(3) \text{ \AA}$, $\beta = 90,078(2)^\circ$ et $R = 0,0434$. L'étude de la structure cristalline du complexe $[Co_2(HL_3)_2(\mu-OH)]Cl_2 \cdot 3(H_2O)$ montre que chaque maille renferme quatre unités asymétriques ($Z = 4$). Chaque unité asymétrique est composée de deux types de cobalt, un cobalt Co^{3+} et un cobalt Co^{2+} , deux molécules du ligand, un ion hydroxyde, deux ions chlorure libres et trois molécules d'eau de cristallisation. Chaque ligand est pentadentate et monodéprotonné avec comme atomes donneurs les atomes d'azotes des fonctions imines, des noyaux pyridines et d'un groupement hydrazine. Les atomes d'oxygène des ligands sont libres, ce qui corrobore les données du spectre infrarouge du complexe. Les ions de cobalt sont reliés d'une part par l'atome d'oxygène du groupement hydroxyle (Co-O-Co) et d'autre part par deux ponts hydrazine, Co-N2-N3-Co et Co-N10-N11-Co. Chaque ion de cobalt (III) est logé dans un site de coordination octaédrique N5O.

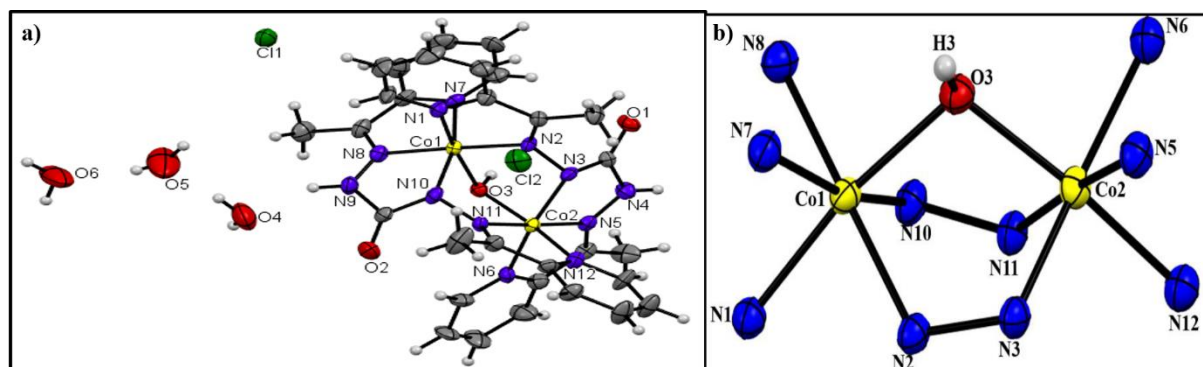


Figure 33 : a) Structure cristalline du complexe $[Co_2(HL_3)_2(\mu-OH)]Cl_2 \cdot 3(H_2O)$ b) polyèdre de coordination autour des ions de cobalt

L'analyse par diffraction des rayons X montre que le complexe $[Cu_2(HL_2)(H_2O)Cl]_2 \cdot 2(ClO_4) \cdot 2H_2O$ cristallise dans un système triclinique avec un groupe d'espace P-1. Les paramètres de la maille sont : $a = 8,06996(3) \text{ \AA}$, $b = 9,6648(3) \text{ \AA}$, $c = 14,879(3) \text{ \AA}$, $\alpha = 74,417(2)^\circ$, $\beta = 77,406(3)^\circ$, $\gamma = 79,270(2)^\circ$ et $R = 0,0383$. La structure cristalline révèle un complexe tétranucléaire centrosymétrique constitué de deux unités dinucléaires reliées par deux ponts μ -Cl. Chaque entité dinucléaire est composée de deux ions de cuivre (II), d'une molécule du ligand, d'un ion chlorure, d'une molécule d'eau coordinante, d'une demi-molécule d'eau de recristallisation et d'un ion perchlorate qui assure la neutralité électrique. Le ligand a subi une énoilisation puis une didéprotonation lors de sa coordination avec les ions de Cu(II). Il est hexadentate et se lie au métal par ses deux atomes d'azote des groupements imines, d'un atome d'azote pyridinique, d'un atome d'oxygène phénolique et d'un atome d'oxygène du groupement

carbonyle. Les ions Cu1(II) et Cu1i(II) sont logés dans un site de coordination pyramidale N3Cl2 alors que les ions Cu2(II) et Cu2i(II) sont situés dans un site tétraédrique N3O.

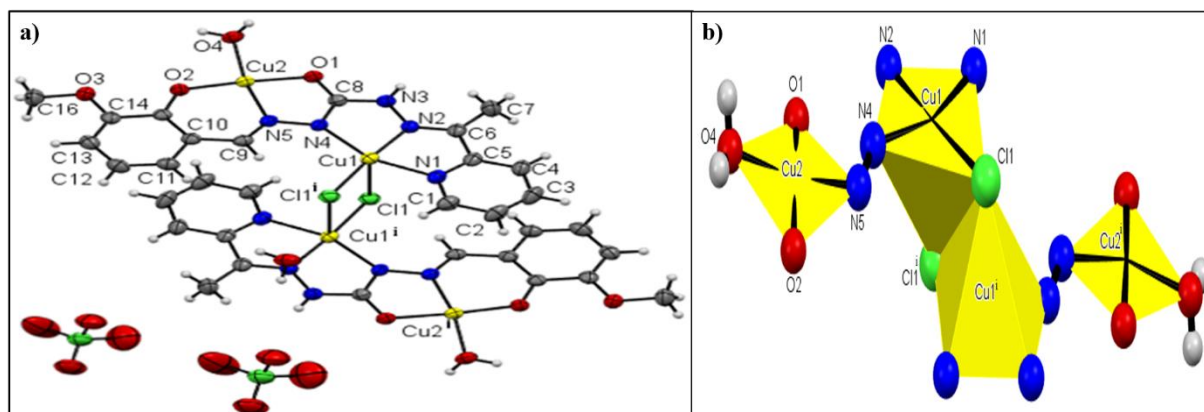


Figure 34 : a) Structure cristalline du complexe $[Cu_2(HL_2)(H_2O)Cl]_2 \cdot 2(ClO_4) \cdot 2H_2O$ b) polyèdre de coordination autour des ions de cuivre(II)

L'analyse de la diffraction des rayons X montre que le complexe $[Dy_4(HL_3)_4O_4] \cdot H_2L_3 \cdot H_2O$ cristallise dans le système monoclinique avec un groupe d'espace $C2/m$. Les paramètres de la maille élémentaire sont : $a = 25,5823 (6) \text{ \AA}$, $b = 20,4737 (4) \text{ \AA}$, $c = 21,6141 (9) \text{ \AA}$, $\beta = 100,063 (3)^\circ$ et $R = 0,0584$. L'unité asymétrique du complexe est composée de quatre ions de dysprosium (III), quatre molécule du ligand lié, quatre ions oxyde liés et une molécule d'eau de recristallisation. Toutefois, nous notons la présence d'une cinquième molécule du ligand qui ne participe pas à la coordination du métal. Ce dernier est maintenu au sein de la structure cristalline par des interactions de type $\pi \cdots \pi$ qui s'établissent entre ses noyaux pyridines et ceux des ligands liés. Chaque ligand lié est pentadentate et monodéprotonné et se coordine aux ions Dy(III) via deux atomes d'azote pyridines, deux atomes d'azote imines et un atome d'oxygène énolyse. Les ions Dy(III) sont reliés deux à deux d'une part par des atomes d'oxygène énolyse des ligands et d'autre part par des ions oxyde (O^{2-}). L'environnement autour de chaque ion Dy(III) est un antiprisme carré

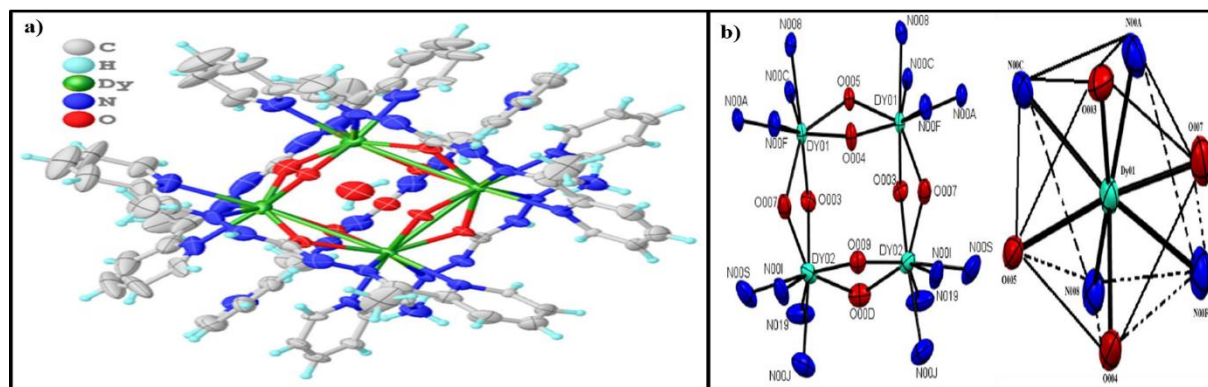


Figure 35 : a) Structure cristalline du complexe $[Dy_4(HL_3)_4O_4] \cdot H_2L_3 \cdot H_2O$ b) Polyèdre de coordination autour des ions de Dy(III)

3.4. Etude des propriétés antioxydante des ligands dissymétrique H4L1 et H3L2

L'étude des propriétés antioxydantes des bases de Schiff carbonohydrzones dissymétriques H4L1 et H3L2 ont été effectuées en utilisant la méthode d'inhibition du radical DPPH en présence du Trolox comme référence positif. A l'aide d'un spectrophotomètre, nous avons déterminer l'absorbance des différentes solution aqueuse contenant les composés textés puis utiliser la formule mathématique ci-dessous pour calculer le pourcentage d'inhibition afin de tracer la courbe du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration.

$$\% I = \frac{A_{blanc} - A_{testé}}{A_{blanc}} \times 100$$

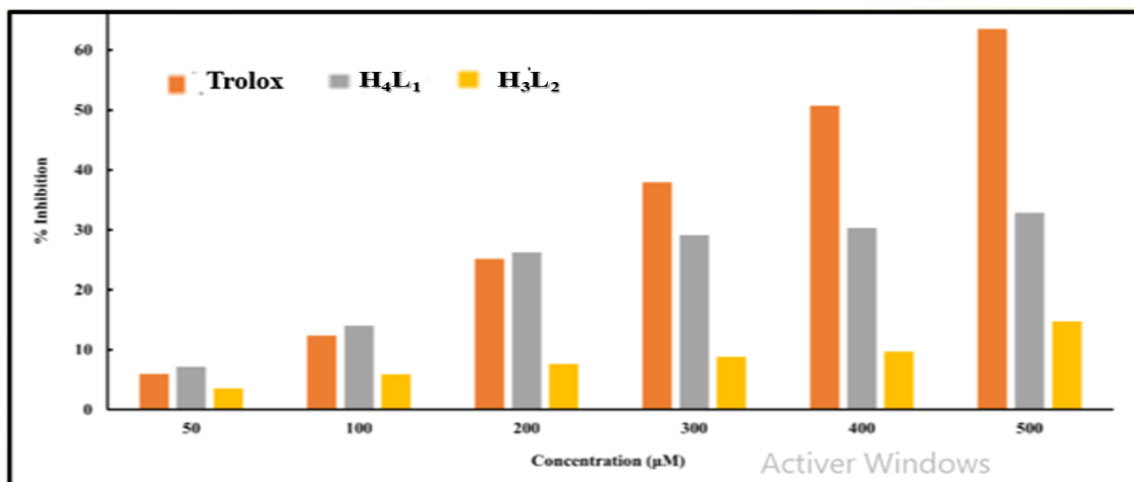


Figure 36 : pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration

L'analyse des histogrammes montre que les propriétés antioxydantes du Trolox et celles des bases de Schiff textés (H₄L₂ et H₃L₃) augmentent en fonction de la concentration. En plus de cela, nous notons que les propriétés antioxydantes du ligand monocarbonohydrzone H₄L₂ est très similaire de celles du Trolox à faible concentration (50-200 µM) plus précisément à 200 µM. Ceci indique que ce ligand H₄L₂ est très promoteur pour la lutte contre le stress oxydatif.

3.5. Etude des propriétés fluorescences du complexe [Zn₄(HL₃)₄](NO₃)₄·2(H₂O)

Les spectres d'émission du ligand H₂L₃ et du complexe de [Zn₄(HL₃)₄](NO₃)₄·2(H₂O) ont été enregistrés à température ambiante dans de l'eau ultra-pure à différentes concentrations. Nous notons une différence entre les spectres d'émission du ligand et du complexe dans de l'eau ultra-pure. En effet pour une même longueur d'onde d'excitation (λ_{ex} = 340 nm) nous observons les pics d'émission du ligand et du complexe respectivement à 390 nm et à 447 nm. Nous remarquons également que l'intensité du spectre d'émission du complexe est beaucoup plus élevée que celle du ligand libre. Ces faits montrent que la fluorescence du ligand est renforcée par la présence des ions Zn²⁺. Lorsqu'on fait varier la concentration des solutions contenant le complexe ou le ligand dans de l'eau ultra-pure, aucun décalage de la longueur d'onde d'émission n'est observé. Par contre l'intensité de la fluorescence augmente avec la concentration. Ceci montre que les intensités d'émissions sont sensibles à la concentration [18].

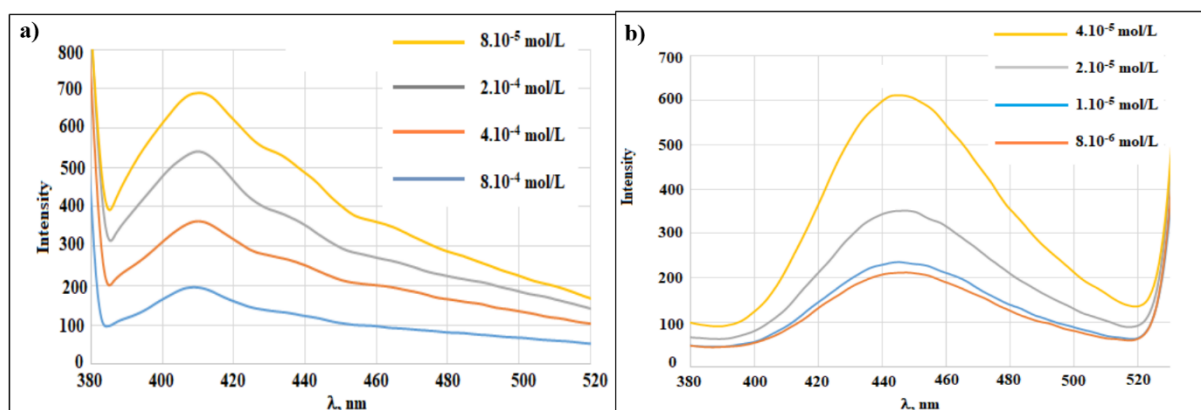


Figure 37 : a) Spectre de fluorescence du ligand dans l'eau pur à différentes concentration à température ambiante b) Spectre de fluorescence du complexe dans l'eau pur à différentes concentration à température ambiante

3.6. Etude des propriétés magnétiques

La dépendance en température du produit de la susceptibilité magnétique par la température du complexe $[\text{Co}_2(\text{HL}_3)_2(\mu\text{-OH})]\text{Cl}_2 \cdot 3(\text{H}_2\text{O})$ est reportée sur la figure 10a. L'allure de cette courbe est presque constante entre 200 et 300 K. Ceci est en accord avec la relation de Curie ($J = 0$). Sa valeur à 300 K vaut $2,03 \text{ ému K mol}^{-1}$. Elle est proche de celle attendue pour un ion de cobalt (II). Ceci montre que le complexe $[\text{Co}_2(\text{HL}_3)_2(\mu\text{-OH})]\text{Cl}_2 \cdot 3(\text{H}_2\text{O})$ se comporte magnétiquement comme un complexe mononucléaire. Lorsqu'on abaisse température à partir de 200 K, la courbe $\chi_M T$ décroît jusqu'à atteindre une valeur de $1,15 \text{ ému.K.mol}^{-1}$ à 2 K, correspondant à un spin effectif $S = 1$. Ceci confirme que l'état fondamental est magnétique ($S \neq 0$). Cette décroissance peut être due par un couplage spin orbite ou une anisotropie magnétique. Pour clarifier le phénomène responsable de cette décroissance et étudier les propriétés magnétiques de notre complexe à basse température, nous avons enregistré la courbe de l'aimantation en fonction du champ magnétique à 2 K. L'allure de la courbe a montré que l'aimantation augmente avec le champ. L'absence de la saturation révèle la présence d'une anisotropie magnétique. Cette anisotropie magnétique corroborée avec la valeur de l'aimantation à champ nulle égale à $1,1N\beta$ révèlent un comportement de molécule d'aimant pour notre complexe.

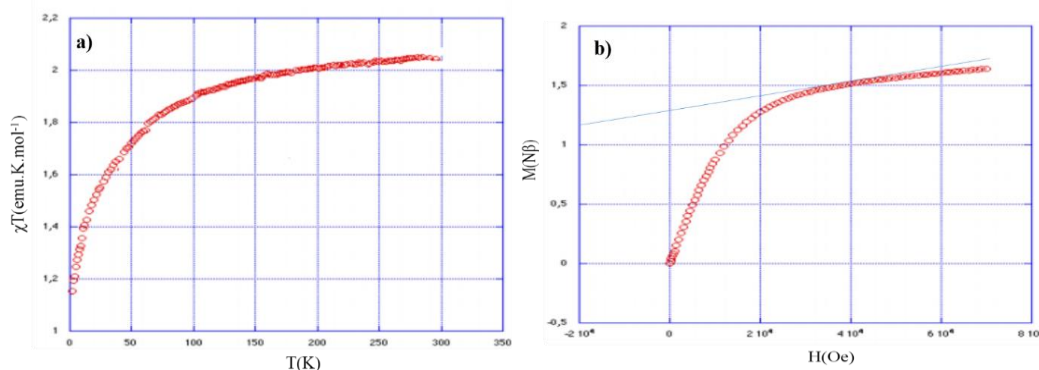


Figure 38 : a) Variation du produit $\chi_M T$ en fonction de la température T b) Variation de l'aimantation en fonction de l'excitation magnétique à 2 K

4. Conclusion

Les résultats de notre travail ont montré que nos objectifs ont été atteints puisque nous avons mis en place une méthode de synthèse reproductible des bases de Schiff carbonohydrazone avec des rendements très élevés. L'étude des propriétés antioxydantes des bases de Schiff carbonohydrazone dissymétriques H_4L_1 et H_3L_2 a montré l'importance de ces composés dans le domaine biologique puisque le composé monocarbonohydrazone H_4L_1 présente des propriétés antioxydantes importantes à faible concentration ($200 \mu\text{M}$). Nous avons vu également l'importance de ces bases de Schiff en chimie de coordination car ils ont servi comme ligands pour synthétiser quatre complexes 3d et 4f : $[\text{Zn}_4(\text{HL}_3)_4](\text{NO}_3)_4 \cdot 2(\text{H}_2\text{O})$, $[\text{Co}_2(\text{HL}_3)_2(\mu\text{-OH})]\text{Cl}_2 \cdot 3(\text{H}_2\text{O})$, $[\text{Cu}_2(\text{HL}_2)(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]_2 \cdot 2(\text{ClO}_4) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ et $[\text{Dy}_4(\text{HL}_3)_4\text{O}_4] \cdot \text{H}_2\text{L}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$. L'étude des propriétés physiques de ces composés inorganiques qu'ils dérivent a révélé que le complexe $[\text{Zn}_4(\text{HL}_3)_4](\text{NO}_3)_4 \cdot 2(\text{H}_2\text{O})$ présente des propriétés fluorescentes importantes et le complexe de $[\text{Co}_2(\text{HL}_3)_2(\mu\text{-OH})]\text{Cl}_2 \cdot 3(\text{H}_2\text{O})$ se comporte comme une molécule aimant. En perspective nous comptons étudier les propriétés luminescentes et magnétiques à température variable du complexe $[\text{Dy}_4(\text{HL}_3)_4\text{O}_4] \cdot \text{H}_2\text{L}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$.

5. Bibliographie

- [1] A. Bacchi, M. Carcelli, P. Pelagatti, C. Pelizzi, G. Pelizzi, F. Zani, *J. Inorg. Biochem.*, 75, (1999), 123 – 133.
- [2] R. Kothari, B. Sharma, *Orient. J. Chem.*, 26, (2010), 1577 – 1579.
- [3] A. Božić, N. R. Filipović, I. Novaković, S. Bjelogrić, J. Nikolic, S. Drmanic, A. A. Marinkovic, *J. Serbian Chem. Soc.*, 82, (2017), 1 – 14.
- [4] R. Bikas, H. Hosseini-Monfared, P. Aleshkevych, R. Szymczak, M. Siczek, T. Lis *Polyhedron*, 88, (2015), 48 – 56.
- [5] O. A. El-Gammal, G. M. Abou El-Reash, S. E. Ghazy, A. H. Radwan, *J. Mol. Struct.*, 1020, (2012), 6 – 15.
- [6] M. M. Sow, O. Diouf, M. Gaye, A. S. Sall, G. Castro, P. P. Lourido, L. Valencia, A. Caneschi, L. Sorace, *Inorg. Chim. Acta*, 406, (2013), 171 – 175.
- [7] D. Dragancea, S. Shova, É. A. Enyedy, M. Breza, P. Rapta, L. M. Carrella, E. Rentschler, A. Dobrov, V. B. Arion, *Polyhedron*, 80, (2014), 180–192.
- [8] W. N. Wa, P. D. Mao, Y. Wang, X. J. Mao, Z. Q. Xu, Z. H. Xu, X. L. Zhao, Y. C. Fan, X. F. Hou, *Elsevier : Amsterdam the Netherland.*, 258, (2018), 393 – 401.
- [9] P. Novak, T. Jednacak, J. P. Vukovic, K. Zangger, M. Rubcic, N. Galic; T. Hrenar, *Croat. Chem. Acta.*, 85(4), (2012), 451 - 456.

- [10] M. Alias, H. Kassum, C. Shakir, *JAAUBAS.*, 15, (2014), 28-34.
- [11] P. A. Ajibade, G. A. Kolawole, P. O' Brien, M. Helliqelle, J. Raftery, *Inorg. Chim. Acta*, 359, (2006), 3111-3116.
- [12] N. S. Bairadar, B. R. Patil, V. H. Kulkarni, *J. Inorg. Nucl. Chem.*, 37, (1975), 1901.
- [13] H. Tamada, *Bull Chem. Soc. Japan.*, 32, (1959), 1051.
- [14] W. J. Geary, *Coord. Chem. Rev.*, 7, (1971), 85.
- [15] N. H. Al-Sha'alan, *Molecules*, 12, (2007), 1080-1091.
- [16] S. Pathak, K. Chakraborty, S. Ghosh, K. Roy, B. Jana, S. Konar, *J. Mol. Struct.*, 1152, (2018), 96-100.
- [17] O. Kahn, "Molecular Magnetism", *Verlag Chemie*, New York, (1993).
- [18] J. A. Kemlo, T. M. Sheperd, *Chem. Phys. Lett.*, 47, (1977), 158-162.

Synthèse, caractérisation d'un nouveau complexe tétranucléaire de zinc dérivant d'un ligand dicarbonohydrazone symétrique.

Babacar DIOP^{1*}, Thierno Moussa SECK¹, Ousmane DIOUF¹, Binta DIOUM¹, Mohamed Lamine GAYE¹

1 Université Cheikh Anta Diop, FST, Dakar, Sénégal.

* bdiop6574@gmail.com

Résumé : De nos jours les complexes polynucléaires sont très recherchés en raison de leur potentiel d'application dans divers domaines tels que le magnétisme moléculaire [1], la catalyse, l'optique et la biologie [2]. A titre d'exemple on peut citer les travaux de Seck et ses collaborateurs qui ont rapporté un complexe tétranucléaire de zinc et l'étude des propriétés luminescentes a révélé que le complexe présente des propriétés fluorescences très importantes [3]. C'est ainsi que beaucoup de chercheurs sont à la recherche de nouveaux composé de coordination de haute nucléarité ayant des applications dans le domaine optique ou magnétique. Le problème pour accéder à ces types de composé se pose sur le choix du ligand. Pourtant ceux dérivés du carbonohydrazone sont de bons candidats pour synthétiser les complexes polynucléaires. le but de notre travail est de synthétiser et caractériser un nouveau complexe tétranucléaire de zinc(II) en utilisant comme ligand H₂L : 1,5-bis(1-(pyridin-2yl)ethylidene)carbonohydraside). Les résultats basés sur l'analyse de la diffraction des rayons X a montré que l'unité asymétrique du complexe est composée de deux entités dinucléaires reliées par des ponts μ - chloro. Dans chaque entité dinucléaire le ligand est hexaséantate, monodeprotoné et adopte une configuration S – trans. La géométrie autour des ions Zn₁ et Zn₁(i) est bipyramide trigonale tandis que les ions Zn₂ et Zn₂(i) sont dans un environnement octaédrique.

Mots Clés : carbonohydrazone, zinc(II), DRX, Complexe tétranucléaire

Synthesis, characterization of a new tetranuclear zinc complex derived from a symmetric dicarbonohydrazone ligand.

Abstract : Nowadays, polynuclear complexes are highly sought after because of their potential applications in various fields such as molecular magnetism [1], catalysis, optics and biology [2]. Among them are zinc complexes that exhibit biological and luminescent properties. For example, the work of Seck et al. reported a tetranuclear zinc complex and the study of the luminescent properties revealed that the complex exhibited very high fluorescent properties [3]. Thus, in the symmetrical dicarbonohydraside ligand (H₂L : 1,5-bis(1-(pyridin-2yl)ethylidene)carbonohydraside) we have a tetranuclear Zn(II) complex that was synthesized and characterized by different spectroscopic techniques such as infrared, NMR and UV-visible. Single crystal X-ray diffraction analysis allowed us to elucidate the crystal structure of the ligand and the complex. The asymmetric unit of the complex crystal structure is composed of two dinuclear entities linked by μ -chloro bridges. In each dinuclear entity the ligand is hexadentate, monodeprotonated and adopts an S - trans configuration. The geometry around the Zn₁ and Zn₁(i) ions is trigonal bipyramid while the Zn₂ and Zn₂(i) ions are in an octahedral environment.

Keywords : Polynuclear complexes ; metal ions; ligands

1. Introduction

De nos jours les complexes polynucléaires sont très recherchés en raison de leur potentiel d'application dans divers domaines tels que le magnétisme moléculaire [1], la catalyse, l'optique et la biologie [2]. Parmi eux on peut citer les complexes de zinc qui présentent des propriétés biologique et luminescente. A titre d'exemple on peut citer les travaux de Seck et ses collaborateurs qui ont rapporté un complexe tétranucléaire de zinc et l'étude des propriétés luminescentes a révélé que le complexe présente des propriétés fluorescences très importantes [3]. Le problème pour accéder à ces types de composé se pose sur le choix du ligand. Pourtant ceux dérivés du carbonohydrazone sont de bons candidats pour synthétiser les complexes polynucléaires. le but de notre travail est de synthétiser et caractériser un nouveau complexe tétranucléaire de zinc(II) en utilisant comme ligand H₂L : 1,5-bis(1-(pyridin-2yl)ethylidene)carbonohydraside). Les différentes techniques spectroscopiques telles que l'infrarouge, la RMN et l'UV-visible sont utilisés pour la caractérisation du ligand et son complexe. L'analyse de la diffraction aux rayons X sur un monocristal nous a permis d'élucider la structure cristalline du ligand et celle du complexe.

2. Matériel et méthodes

Les réactifs et solvants utilisés pour synthétiser le ligand son complexe de Zn(II) sont le carbohydrazine, le 2-pyridinecaraldéhyde, le chlorure de zinc(II) hexahydraté et le méthanol. Ils sont d'origine Aldrich Sigma et sont utilisés sans aucune purification au préalable. Les technique de caractérisation utilisés sont l'infrarouge, la RMN ¹H, RMN ¹³C, l'UV-visible, conductimètre et la diffraction des rayons X.

2.1. Synthèse du ligand N, N'-1,5-bis (pyridylméthylidène)carbonohydrazone H₂L

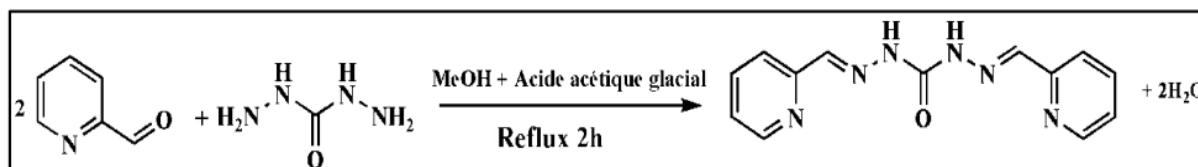


Schéma 7 : Synthèse du ligand N, N'-1,5-bis (pyridylméthylidène)carbonohydrazone H₂L

Mode opératoire :

Dans un ballon de 100 mL contenant 20 mL de méthanol, on introduit 2 g (0,0222 mol) de carbohydrazine. Après agitation sous reflux pendant trente minutes, on obtient une suspension dans laquelle on ajoute une solution de méthanol contenant 4,757 g (0,0444 mol) de 2 pyridinecaraldéhyde et quelques gouttes d'acide acétique glacial. On observe la formation d'un précipité blanc. Le mélange est porté à reflux pendant deux heures. On obtient une solution orange qui précipite après deux jours au frigo. Ce précipité est récupéré par filtration, lavé avec du méthanol à froid (2 x 10 mL) puis avec de l'éther diéthylique (2 x 10 mL) avant d'être séché sous P2O₅. Aspect : solide blanc. Tf ° = 216 °C. Masse : 4,88 g soit un rendement de 82 % . Solubilité : Le produit est soluble dans le diméthylsulfoxyde, le diméthylformamide, l'acétonitrile (à chaud), l'éthanol (à chaud) et le méthanol (à chaud). **IR (cm-1)** : 3439 ; 3204, 3198 ; 3055 ; 2936 ; 1684 ; 1582 ; 1610; 1582 ; 1532 ; 1467 ; 1360 ; 1274 ; 1131. **RMN 1H (dmsO-d6, δ en ppm)** : 7,6 – 8,72 (m, 8H, H_{py}) ; 10,82 (s, 2H, N-H) ; 8,03 (s, 1H, HC=N). **RMN 13C (dmsO-d6, δ en ppm)** : 157,9 (C-8) ; 154,70 (C-5, C-5') ; 148,07 (C-1, C-1') ; 146,67 (C-6, C-6') ; 137,60 (C-3, C-3') ; 123,00 (C-2, C-2') ; 119,09 (C-4, C-4').

2.2. Synthèse du complexe tétranucléaire de zinc (II)

Le mode opératoire consiste à introduire dans un ballon de 100 mL contenant 10 mL de méthanol 0,676 mmol de H₂L. On y ajoute sous agitation à la température ambiante, 5 mL d'une solution de méthanol contenant 0,676 mmol de chlorure de zinc(II) hexahydraté (ZnCl₂.6H₂O) préalablement préparée. Le mélange est agité pendant une heure à la température ambiante. On obtient une solution jaune limpide qui est ensuite filtrée et placée en évaporation lente. Le filtrat a donné des monocristaux jaunes dont l'analyse de diffraction des rayons nous a permis de déterminer la structure cristalline du complexe. Point de fusion : > 260 °C. Rendement : 87,9 % . **IR (cm-1)** : 3428 ; 3116 ; 3043 ; 1585 ; 1553 ; 1497 ; 1461 ; 1377 ; 1313 ; 1226 ; 1143 ; 820 : **UV-vis (DMF, nm)** : 225 ; 265 ; 345 ; 456. **Λ (Ω⁻¹.cm².mol⁻¹, DMF)** : solution fraîche : 11,2 ; Quinze jours après : 14,7.

3. Résultats et discussion

3.1. Etude RMN ¹H et ¹³C du ligand N, N'-1,5-bis (pyridylméthylidène)carbonohydrazone H₂L

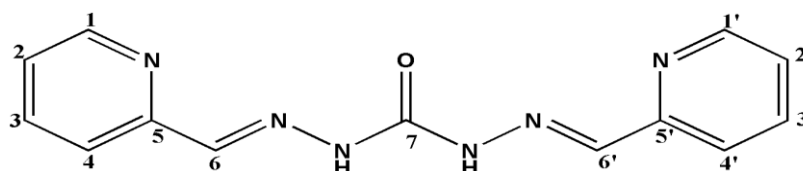


Schéma 8 : Structure du ligand H₂L

Le spectre de RMN ¹H du ligand H₂L enregistré dans du DMSO (dmsO-d6) révèle un signal sous forme singulet intégrant deux protons à 8,03 ppm. Il est attribué au signal des protons iminiques. Sa présence montre que la réaction de condensation entre les deux réactifs a bien eu lieu. Les signaux des protons

des noyaux pyridine apparaissent à 8,72 ppm, 7,90 ppm, 7,84 ppm et 7,54 ppm. Le signal dû aux protons liés aux atomes d'azote est repéré à 10,82 ppm (s, 2H, N-H). La présence de ce dernier et l'absence d'un signal caractéristique d'un proton iminolique attendu dans la région 11-13 ppm suggèrent l'existence du ligand sous la forme amide en solution dans le DMSO [4-6]. Les données du spectre RMN ¹³C du ligand H₂L confirment la symétrie et la forme amide du ligand en solution dans le DMSO. Ceci est prouvé respectivement par le nombre de signaux et la présence d'un signal à 155,96 ppm attribuable à l'atome de carbone C-8 du groupement carbonyle. En plus de ce signal, il révèle la présence d'autres signaux à 119,09 ppm, 123,00 ppm, 137,60 ppm, 148,07 ppm et 154,70 ppm. Ils sont attribués respectivement aux atomes de carbone (C-4 ; C-4'), (C-2 ; C-2'), (C-3 ; C-3'), (C-1 ; C-1') et (C-5 ; C-5') des groupements pyridines. Le signal des atomes de carbone C-2 ; C-2' des groupements imines apparait à 146,63 ppm. La présence de ce dernier confirme la formation du ligand.

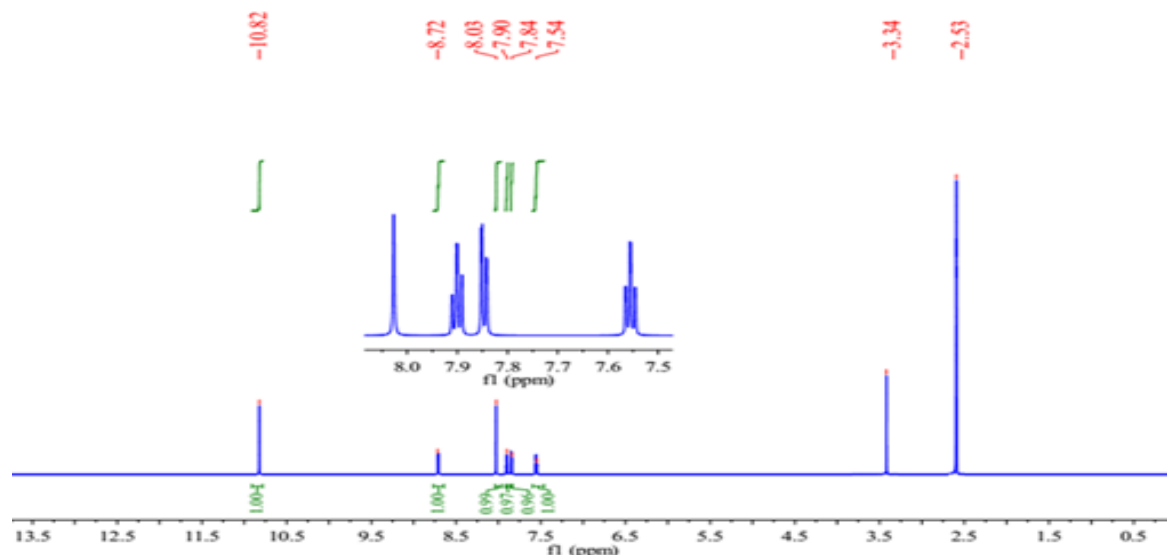


Figure 39 : Spectre RMN ¹H du ligand H₂L

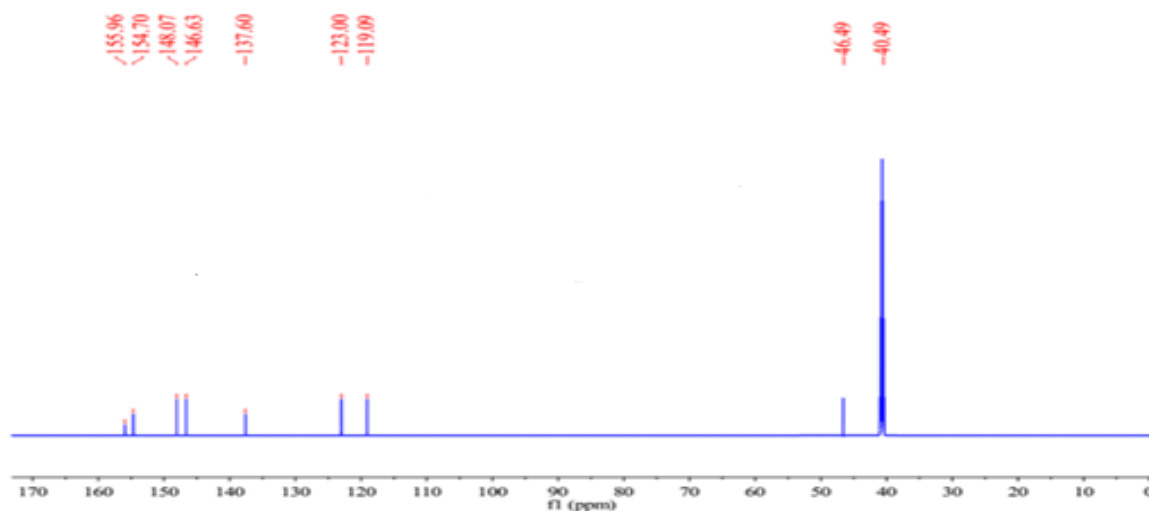


Figure 40 : Spectre RMN ¹³C du ligand H₂L

3.2. Etude IR, UV-visible et conductimétrique du complexe tétranucléaire de zinc(II)

Les données infrarouges du ligand H₂L et le complexe [Zn₄(HL)₂Cl₄(H₂O)₂(μ Cl)₂] sont consignées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 12 : Données infrarouge du ligand et du complexe [Zn₄(HL)₂Cl₄(H₂O)₂(μ Cl)₂]

Composés	$\nu(\text{C}=\text{O})$	$\nu(\text{C}=\text{N})$ imine	$\nu(\text{C}=\text{N})$ pyridine	$\nu(\text{N}-\text{H})$	$\nu(\text{C}-\text{O})$	$\nu_3(\text{H}_2\text{O})$ et $\delta(\text{H}_2\text{O})$
H₂L	1684	1610	1582	3204	-----	-----
[Zn ₄ (HL) ₂ Cl ₄ (H ₂ O) ₂ (μ Cl) ₂]	-----	1585	1553	3116	1313	3428 et 820

En comparant les données infrarouges du complexe et celles du ligand H₂L libre, nous notons que le ligand a subi une énolisation puis déprotonation lors de sa coordination avec l'ion Zn(II). Ceci est confirmé par l'absence de la bande $\nu(\text{C}=\text{O})$ et la présence de la bande $\nu(\text{C}-\text{O})$ sur le spectre du complexe à 1313 cm⁻¹. La présence de la bande de vibration $\nu(\text{N}-\text{H})$ à 3116 cm⁻¹ montre que le ligand n'est pas totalement déprotoné. Nous remarquons également le déplacement vers les basses fréquences des bandes de vibration $\nu(\text{C}=\text{N})$ de la fonction imine et $\nu(\text{C}=\text{N})$ du noyau pyridine. Ce déplacement est une preuve de la participation des atomes d'azote de la fonction imine et du noyau pyridine du ligand lors de la coordination de l'ion Zn(II) [7-11]. Outre ces bandes de vibrations du ligand, nous observons des bandes de vibration à 3428 cm⁻¹ et 820 cm⁻¹ sur le spectre du complexe. Elles sont attribuées respectivement aux vibrations $\nu_3(\text{H}_2\text{O})$ et $\delta(\text{H}_2\text{O})$ d'une molécule d'eau liée. Les valeurs de la conductivité molaire de la solution fraîche de DMF contenant le complexe et après quinze jours de conservation valent respectivement 11,2 Λ ($\Omega^{-1}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{mol}^{-1}$) et 14,7 ($\Omega^{-1}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{mol}^{-1}$). Elles montrent que le complexe [Zn₄(HL)₂Cl₄(H₂O)₂(μ Cl)₂] est un électrolyte neutre [12] et qu'il est stable en solution dans du DMF. Sur le spectre UV-visible du complexe, nous observons des bandes de transitions entre [225-265] nm et à 354 nm. Elles sont attribuées respectivement aux transitions $\pi\rightarrow\pi^*$ et $n\rightarrow\pi^*$ du ligand [13]. Outre ces absorptions intra-ligand, sort dans la zone du visible une bande de transition à 456 nm correspondant à une bande de transfert de charge ligand-métal (TCLM).

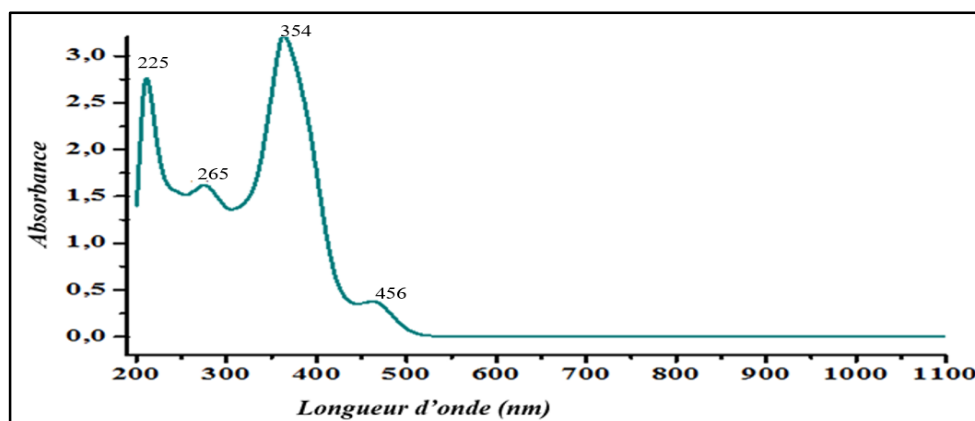


Figure 41 : Spectre UV-visible du complexe [Zn₄(HL)₂Cl₄(H₂O)₂(μ Cl)₂]

3.3. Etude cristallographique du ligand H₂L et du complexe [Zn₄(HL)₂Cl₄(H₂O)₂(μ Cl)₂]

L'analyse cristallographique du ligand H₂L montre qu'il cristallise dans le système monoclinique avec le groupe d'espace P21/n. Les paramètres de la maille élémentaire sont : a = 4,24665(4) Å ; b = 20,67067(16) Å ; c = 14,77256(10) Å, $\beta = 93,9342(8)^\circ$ et R = 0,0379. La structure cristalline du ligand montre que l'atome d'oxygène O1 et l'atome d'azote N22 sont en position cis par rapport à la liaison C3—N11. Ce même atome d'oxygène O1 est en position trans avec l'atome d'azote N13 par rapport à la liaison C3—N9. Cette géométrie montre que le ligand est un bon précurseur pour former un complexe polynucléaire avec les sels métalliques.

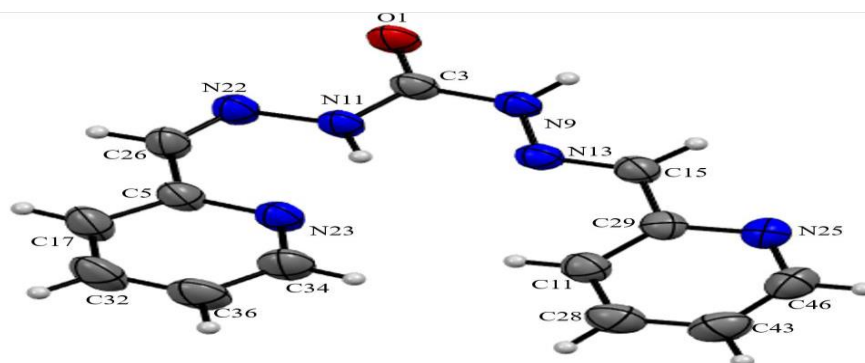


Figure 42 : Structure cristalline du ligand H_2L

Pour le complexe, l'analyse par la diffraction des rayons X montre qu'il cristallise dans un système triclinique avec un groupe d'espace P-1. Les paramètres de la maille sont : $a = 9,2002(4) \text{ \AA}$, $b = 9,4306(4) \text{ \AA}$, $c = 11,7651(4) \text{ \AA}$, $\alpha = 94,639(3)^\circ$, $\beta = 110,091(4)^\circ$, $\gamma = 97,599(3)^\circ$ et $R_1 = 0,045$.

L'unité asymétrique du complexe est un tétranucléaire de Zn(II) centrosymétrique constitué de deux entités dinucléaires. Chaque entité dinucléaire est composée d'une molécule du ligand, de trois ions chlorure liés, d'une molécule d'eau liée et de deux ions de Zn(II). Dans chaque entité dinucléaire, le ligand est monodéprotonné et hexadentate avec comme atomes donneurs deux atomes d'azote imines, deux atomes d'azote des noyaux pyridines, un atome d'azote du groupement hydrazine et un atome d'oxygène carbonyle. Les ions Zn1(II) et Zn2(II) sont logés respectivement dans les sites de coordination N_2OCl_2 et N_3OCl_2 . La géométrie autour de l'ion de Zn2(II) est décrite comme un octaèdre distordu tandis que celle autour de l'ion Zn1(II) est décrite comme une pyramide à base carrée déformée.

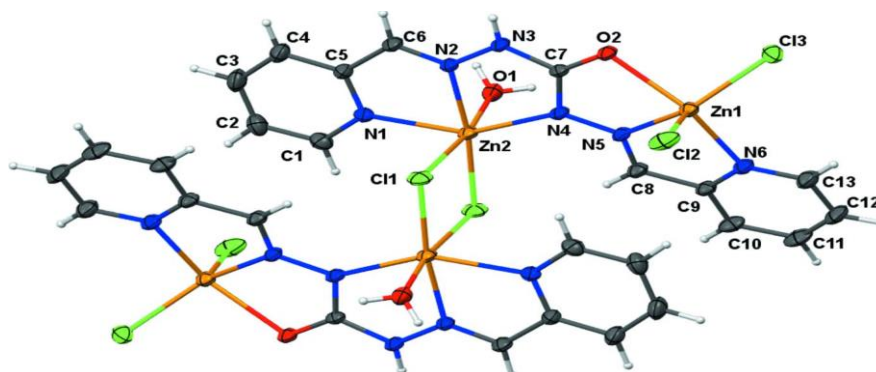


Figure 43 : structure cristalline du complexe $[Zn_4(HL)_2Cl_4(H_2O)_2(\mu Cl)_2]$

Dans la structure supramoléculaire nous observons des liaisons hydrogène intermoléculaires de type $O \cdots H-N$ et $Cl \cdots H-O$. Le type $O \cdots H-N$ s'effectue entre l'atome d'oxygène O2 du ligand qui agit comme accepteur de proton et l'atome d'azote du groupement hydrazine qui agit comme donneur de proton. Le type $Cl \cdots H-O$ s'établit entre une molécule d'eau en position équatoriale liée à l'ion Zn1(II) et un ion chlorure. Ces liaisons hydrogènes intermoléculaires assurent la stabilité de la structure cristalline du complexe.

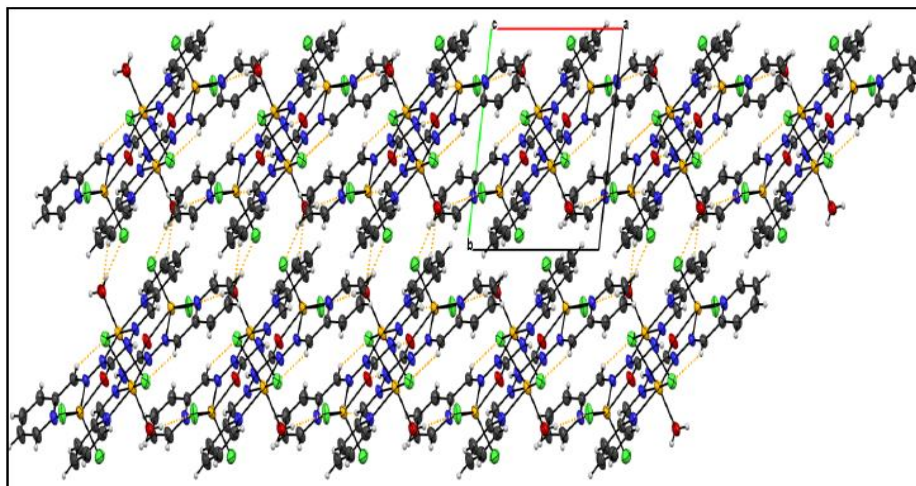


Figure 44 : Structure supramoléculaire du complexe $[Zn_4(HL)_2Cl_4(H_2O)_2(\mu Cl)_2]$

4. Conclusion

Dans ce travail, nous avons vu l'importance du choix du ligand carbonohydrone symétrique pour la synthèse des composés inorganiques polynucléaires. Ce ligand a été utilisé pour synthétiser un nouveau complexe tétranucléaire de zinc(II) $[Zn_4(HL)_2Cl_4(H_2O)_2(\mu Cl)_2]$ résultant de la combinaison de deux entités dinucléaires reliés par des pont μ -Cl. Dans la structure cristalline, chaque molécule du ligand est hexadentate ; monodéprotonné et adopte une configuration S-trans. L'environnement autour de l'ion Zn1 est décrit comme une pyramide à base carrée et celui autour de Zn2 comme un octaèdre. Dans la structure supramoléculaire, les différentes unités asymétriques sont reliés par des liaisons hydrogène intermoléculaire. Ces dernières assurent la stabilité de la structure cristalline du complexe. En perspective nous comptons étudier les propriétés antioxydante, antifongique et la toxicité du ligand H₂L et les propriétés luminescentes du complexe $[Zn_4(HL)_2Cl_4(H_2O)_2(\mu Cl)_2]$ obtenu.

5. Bibliographie :

- [1] J. Ferrando-Soria, J. Vallejo, M. Castellano, J. Martínez-Lillo, E. Pardo, J. Cano, I. Castro, F. Lloret, R. Ruiz-García, M. Julve, Molecular magnetism, *Coord. Chem. Rev.*, **2017**, 339, 17–103.
- [2] Gatteschi, L. Bogani, A. Cornia, M. Mannini, L. Sorace, R. Sessoli, Molecular magnetism, status and perspectives, *Solid State Sci.*, **2008**, 10, 1701–1709.
- [3] T.M. Seck, M. Diop, D. Diouf, O. Diouf, A.H. Barry, M. Gaye, *journal of Applied chemistry, dec 2018*, 11,06-14
- [4] S. S. Massoud, A. E. Guilbeau, H. T. Luong, R. Vicente, J. H. Albering, R. C. Fischer, F. A. Mautner, *Polyhedron*, **54**, (2013), 26–33.
- [5] M. D. Tinguiano, *Thèse de Doctorat, Université Cheikh Anta Diop de Dakar (U.C.A.D), Sénégal*, (2013), 101-102.
- [6] J. Brudenell, L. Spiccia, E. R. T. Tiekling, *Inorg. Chem.*, **35**, (1996), 1974.
- [7] H. Ünver, T. N. Durlu, *J. Mol. Structure.*, **655**(3), (2003), 369.
- [8] H. Temel, S. Ihan, M. Sekerci, *Synth. React. Inorg. Met.-Org. Chem.*, **32**, (2002), 1627.
- [9] F. Lions, K.V. Martin, *J. Am. Chem. Soc.*, **79**, (1957), 2733–2738.
- [10] M. Otomo, K. Kodama, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **48**, (1975), 906–910.
- [11] E. S. Okerberg, S. Elshihabi, P. T. Carmichael, K. A. Woddy, T. A. Barckholtz, J. A. Burke, M. M. Bushey, *J. Microcol. Sep.*, **12**, (2000), 391–397.
- [12] W. J. Geary, *Coord. Chem. Rev.*, **7**, (1971), 85.
- [13] V. L. Siji, M. R. Sudarsanakumar, S. Suma, *Polyhedron*, **29**, (2010), 2035–2040.

Evaluation des propriétés hydriques des films plastiques à base d'amidon de manioc renforcés au kaolin et au métakaolin

Méité Namory^{a*}, Konan Koffi Léon^a, Tognonvi Tohoué Monique^b, Kouakou Lébé Prisca M-S^a, Kouamé Niamien Alfred^a, Sanou Ali^c, Oyetola Samuel^a

^aLaboratoire de Constitution et de Réaction de la Matière (LCRM), Université Félix Houphouët Boigny, 22 BP 582 Abidjan 22, Abidjan, Côte d'Ivoire

^bLaboratoire de sciences biologiques, Université Péléforo Gon Coulibaly de Korhogo, BP 1328 Korhogo (Côte d'Ivoire).

^cLaboratoire des Procédés Industriels, de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles (LAPISEN), l'Institut National Polytechnique Houphouët Boigny (INP-HB) de Yamoussoukro, BP 1093 Yamoussoukro, Côte d'Ivoire.

* Courriel : namorymeite2986@gmail.com

Résumé

L'apparition des concepts tels que le développement durable et la chimie verte ont permis le développement des films plastiques biodégradables [1]. Malheureusement, les bioplastiques se caractérisent généralement par une grande sensibilité à l'eau [2]. Ces propriétés peuvent être améliorées par incorporation des argiles [3-4]. Ce travail vise donc à étudier l'influence des argiles sur la biodégradabilité et les propriétés hydriques des films plastiques à base d'amidon de manioc. Après élaboration des bioplastiques par la méthode de coulée-évaporation, leur caractérisation montre que le métakaolin améliore sensiblement les propriétés hydriques des films plastiques (solubilité, diffusion, perméabilité). La solubilité de BP (bioplastique) passe de 35,61% à respectivement 29,6% et 22,1% pour BPKB (bioplastique avec kaolin KB) et BPMKB (bioplastique avec metakaolin). La perméabilité et la diffusion d'eau diminuent plus lorsque le renfort est le métakaolin. Cette amélioration pourrait être dû au fait que les films renforcés au métakaolin se comportent comme des composites. L'évaluation de la biodégradabilité révèle que le métakaolin favorise plus la dégradation des films composites. Les films plastiques se dégradent dans les deux milieux (surface ou dans le sol) mais plus marquée lorsque les échantillons sont enfouis. Ces nouveaux matériaux biodégradables pourraient être utilisés comme les emballages alimentaires.

Mots-clés : Bioplastiques ; Biodégradable ; Métakaolin, Perméabilité

Evaluation of the water properties of cassava starch-based plastic films reinforced with kaolin and metakaolin

Abstract

The emergence of concepts such as sustainable development and green chemistry have enabled the development of biodegradable plastic films [1]. Unfortunately, bioplastics are generally characterized by a high sensitivity to water [2]. These properties can be improved by incorporating clays [3-4]. Therefore, this work aims to investigate the influence of clays on the biodegradability and water properties of cassava starch-based plastic films. After elaboration of bioplastics by the casting-evaporation method, their characterization shows that metakaolin significantly improves the water properties of plastic films (solubility, diffusion, permeability). The solubility of BP (bioplastic) increases from 35.61% to 29.6% and 22.1% for BPKB (bioplastic with kaolin KB) and BPMKB (bioplastic with metakaolin), respectively. The permeability and water diffusion decrease more when the reinforcement is metakaolin. This improvement could be due to the fact that metakaolin reinforced films behave like composites. The biodegradability evaluation reveals that metakaolin promotes more degradation of composite films. Plastic films degrade in both environments (surface or soil) but more markedly when the samples are buried. These new biodegradable materials could be used as food packaging.

Keywords: Bioplastics; Biodegradable; Metakaolin, Permeability

1. Introduction

L'utilisation, sans cesse croissante de matières plastiques d'origine pétrochimique s'accompagne nécessairement de répercussions environnementales. En effet, La grande majorité de ces déchets plastiques sont non biodégradables. Ils peuvent demeurer dans l'environnement pendant de très longues périodes (100 à 1000 ans). De plus, l'incinération de ces plastiques d'origine pétrochimique est très polluante. Elle dégage d'énorme quantité de CO₂ et d'autres gaz toxiques nocifs pour l'environnement et la santé humaine [5].

La lutte contre la pollution plastique exige donc la mise au point de biopolymères biodégradables, comme alternative aux polymères synthétiques. Les emballages thermoplastiques ont pris un essor considérable ces dernières années. Ces matériaux thermoplastiques présentent l'avantage d'être peu coûteux (matières premières), plus légers, résistants aux chocs et faciles à mettre en œuvre. Ils sont biodégradables, ce qui permet d'éviter leur amoncellement dans les décharges publiques. La biodégradation est une dégradation catalysée (dans le sol ou à la surface du sol) par des micro-organismes [6]. La structure du matériau se simplifie pour finalement se convertir en H₂O, CO₂, CH₄ et/ou en une biomasse nouvelle et éventuellement un résidu non toxique pour l'homme et l'environnement.

L'amidon (agro-ressource) est un polymère naturel qui peut être facilement plastifié à l'aide d'additifs plastifiants. Cependant, les matériaux plastiques à base d'amidon se caractérisent généralement par des propriétés hydriques faibles. Ces propriétés d'usage peuvent être améliorées par l'utilisation de renforts tels que les fibres végétales, les celluloses et les argiles. L'intérêt, de plus en plus forte pour les argiles se justifie par leur abondance dans la nature, leur taille nanométrique et leur biocompatibilité. Les argiles à structures lamellaires de type montmorillonite sont de plus en plus utilisées comme renforts dans des matrices polymères du fait de leur aptitude à s'exfolier aisément [7]. En les dispersant au niveau nanométrique, ces minéraux augmentent, de façon considérable, les propriétés mécaniques ainsi que le niveau d'imperméabilité avec un faible taux de charge.

En revanche, les argiles de type kaolinitique, bien qu'abondamment disponible en Côte d'Ivoire, restent très peu utilisées [8-9]. En effet, les liaisons hydrogènes interfeuillet et la faible charge permanente des feuillets leur confèrent un caractère non expansible qui rend leur dispersion difficile dans la matrice polymérique. L'obtention d'une kaolinite moins cohésive a souvent été réalisée par un traitement chimique avec le diméthylesulfoxyde (DMSO) [10]. Meite *et al.*, ont montré que le traitement thermique du kaolin à 700°C pendant 1 heure améliore les propriétés physico-chimiques des films plastiques [11]. L'usage du kaolin traité thermiquement comme renfort dans les bioplastiques est susceptible d'éviter des problèmes de toxicité pour l'environnement que pourraient poser les additifs chimiques.

Le présent travail vise à étudier l'influence d'un traitement thermique du kaolin sur la biodégradabilité et les propriétés hydriques des films plastiques élaborés.

2. Matières premières et techniques expérimentales

2.1. Matières premières

L'amidon utilisé est issu d'une variété de manioc appelé Bocou 2. Les tubercules ont été récoltés dans la région de Yamoussoukro, sur le site de coordonnées géographiques 06°53'785" N et 05°14'441"O.

L'argile utilisée lors de cette étude provient du village Yaou dans le Sud-Est de la Côte d'Ivoire. Les coordonnées géographiques du site de prélèvement sont de 05°15'013"N et 03°37'485"O. Le metakaolin (noté MKB) a été obtenu après une calcination à 700°C pendant une heure du kaolin brut dans un four programmable de type Nabertherm avec une vitesse de chauffe de 5°C/min.

2.2. Techniques expérimentales

L'analyse chimique a été réalisée par spectrométrie d'émission plasma ICP-AES après une mise en solution par voie humide à l'aide d'un dispositif micro-onde multiwave Pro de la marque ANTON Paar.

La surface spécifique a été déterminée à l'aide d'un appareil de type Micromeritics Tristar II par la méthode BET (Brunauer, Emmett et Teller). Les échantillons ayant subi au préalable un dégazage à 200°C pendant 16 heures.

Les films plastiques ont été préparés suivant le protocole d'élaboration des bioplastiques décrit dans la littérature [11]. Les films plastiques à base d'amidon de manioc plastifié au glycérol sans charge minérale noté BP, avec 5% de kaolin noté BPKB et avec 5% de metakaolin noté BPMKB ont été étudiés.

Pour obtenir les courbes des isothermes d'adsorption, des films plastiques de dimensions 15 x 30 x 1,4 mm³ ont été placés dans une enceinte maintenue à une température constante de 25°C et une humidité relative (HR) donnée [12]. Les échantillons ont été pesés à l'aide d'une balance de précision à intervalle régulier de 4 heures jusqu'à ce que leur masse ne varie plus. Ces mesures permettent d'obtenir la masse humide (Me) du produit. Après séchage à 105°C, pendant 48 heures, la masse sèche (Ms) a été déterminée. Ces deux masses (Me et Ms) permettent de déduire la teneur en eau à l'équilibre (Xi) selon l'équation $X_i = \frac{M_e - M_s}{M_s}$. Les isothermes sont obtenues en traçant les teneurs d'eau (Xi) en fonction de l'activité d'eau (a_w variant de 0 à 1).

Les coefficients de diffusion et de perméabilité à l'eau ont été mesurés par la méthode gravimétrique sur des échantillons préalablement séchés à 105°C à l'étuve pendant 48 heures. Le nuage de points est obtenu en plaçant la masse d'eau absorbée en fonction du temps selon la relation $\frac{M_t - M_0}{M_\infty} = \frac{4}{e} \sqrt{\frac{D}{\pi}} t^{1/2}$; Où M_0 (g) la masse initiale, M_t = masse à un instant t, M_∞ = masse à l'équilibre, t = temps en seconde et D = coefficient de diffusion (en m².s⁻¹).

La pente de la droite de corrélation permet de déterminer le coefficient de diffusion (D) à partir de la relation $D = \pi \times \left(\frac{\alpha e}{4}\right)^2$; Avec α la pente de la droite de corrélation et e l'épaisseur des films plastiques [13].

Le coefficient de Perméabilité (P) d'eau a été évalué par la relation suivante : $P = \frac{\alpha e}{A \times M(p_1 - p_2)}$

Où α est la pente de la droite de corrélation du nuage de point de la masse d'eau absorbée en fonction du temps (kg.s^{-1}), e est l'épaisseur du film, A est l'aire du film exposé (m^2), M est la masse moléculaire de l'eau (kg.mol^{-1}), et $p_1 - p_2$ est la différence de pression de vapeur sur le film (Pa) [14].

La biodégradabilité a été évaluée par des tests in-situ. Les échantillons sont enfouis ou déposés à la surface du sol selon un protocole précis. Après un temps d'exposition déterminé, les variations de masse sont notées pour chaque échantillon.

3. Résultats et discussion

3.1. Caractérisation physico-chimique de l'Amidon Bocou 2

Les paramètres physico-chimiques de l'amidon de manioc Bocou 2 sont présentés dans le **tableau 1**.

Tableau 1 : Paramètres physico-chimiques de l'amidon

	Teneur en Amylose(%)	Teneur en Amylopectine (%)	Teneur en eau (Te) (%)	Teneur en cendres (Tc) (%)	pH
Amidon de manioc	21,2± 0,1	78,8 ± 0,3	10,22 ± 0,01	0,12 ± 0,03	4,7 ± 0,1

Les teneurs en amylose et en amylopectine sont respectivement de 21,2 et 78,8%. Ces valeurs sont cohérentes avec celles généralement observées pour des amidons de manioc [15].

La teneur en eau de l'amidon Bocou 2 est $T_e = 10,22 \pm 0,01\%$. Cette valeur est inférieure aux valeurs trouvées par Mbey (13,98%) pour l'amidon issu de tubercules de manioc récoltés dans la localité de Mambando [17], par Belibi (12,9%) pour l'amidon de manioc arbuste [17] et par [18] (15,15%). Cette différence pourrait s'expliquer par plusieurs facteurs à savoir : la composition physico-chimique des amidons, l'origine botanique, la variété de manioc mais aussi de l'humidité de l'atmosphère sous laquelle ils ont été conservés.

Le pH du surnageant issus des suspensions d'amidon de manioc est 4,7. Ce caractère acide des amidons de manioc a été mis en évidence par d'autres auteurs [16;18]. Cela pourrait être attribué à la nature du sol et/ou à la méthode d'extraction de l'amidon.

3.2. Caractérisations physico-chimiques du kaolin

La composition chimique, minéralogique et les paramètres physiques du kaolin KB sont regroupés dans le **tableau 2**.

Tableau 2 : Composition chimique (% massique), minéralogique (%) et paramètres physiques

Argile KB	SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	K ₂ O	TiO ₂	Na ₂ O	CaO	MgO
Composition chimique	64,4	29,6	3,3	1,3	0,8	0,8	-	-
Composition minéralogique	Kaolinite = 75 ;			Illite = 11;		Quartz = 14		
Surface spécifique	43,5 m ² /g							
Densité	2,6							

L'analyse chimique montre que KB est composée majoritairement de silice et d'alumine. Les teneurs en oxyde de fer, de titane, de sodium sont relativement faibles dans l'argile KB. A partir des résultats de l'analyse chimique et la composition chimique idéale des phases minéralogiques détectées par la diffraction des rayons X, les calculs basés sur la loi des mélanges, ont permis d'estimer les compositions minéralogiques du kaolin KB (75% kaolinite, 11% illite et 14% quartz). KB présente une surface spécifique de 43,5 m²/g. Cette valeur est relativement importante pour une argile kaolinitique. Cela est dû à la présence d'oxyde de fer mise en évidence par analyse chimique. Toutefois, les raies caractéristiques des phases ferriques n'ont pas pu être mises en évidence sur les spectres DRX probablement du fait de leur faible teneur. La valeur de densité obtenue correspond à celle généralement observée pour une argile de type kaolinitique [19].

3.3 Effet du traitement thermique sur le kaolin

La **figure 1** présente les spectres de diffraction des rayons X du kaolin brut KB et du métakaolin MKB. Tous les pics ont été attribués. Le spectre de rayons X de KB met en évidence les raies caractéristiques de la kaolinite ($2\theta = 12^\circ; 25^\circ; 35^\circ$), de l'illite ($2\theta = 9^\circ; 19,70^\circ; 29,36^\circ$) et du quartz ($2\theta = 26^\circ; 36^\circ; 50^\circ$).

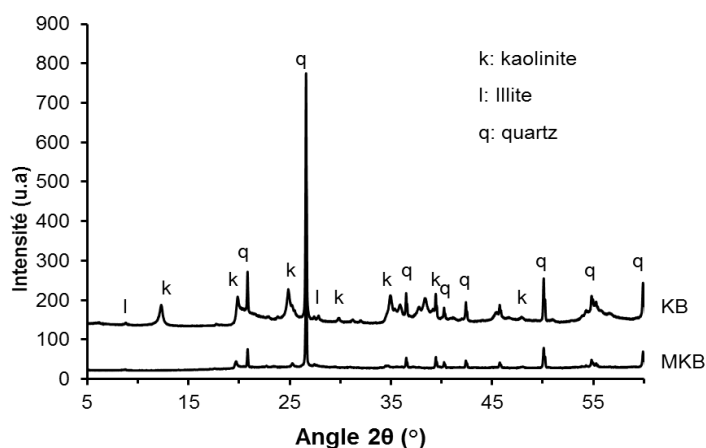
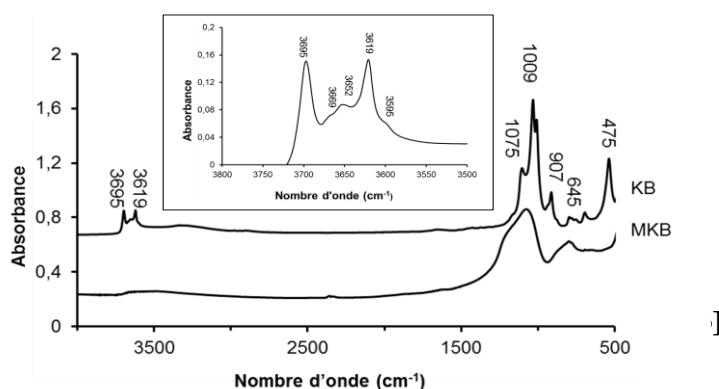


Figure 1 : Spectres de diffraction des rayons X de KB et MKB [11]

Sur le diffractogramme de MKB, seules les raies caractéristiques du quartz sont observées. La disparition des raies caractéristiques de la kaolinite et de l'illite est liée à la transformation du kaolin en métakaolin au cours du traitement thermique.



En effet, le métakaolin, produit du traitement thermique du kaolin au-delà de 500°C est caractérisé par une absence d'ordre à grande distance dans l'arrangement des atomes constitutifs des principales phases argileuses [20]. La **figure 2** présente les spectres infrarouges du kaolin brut KB et du métakaolin MKB. Dans le domaine 3000 – 4000 cm⁻¹, le spectre du kaolin brut présente des bandes à 3695 cm⁻¹ ; 3669 cm⁻¹ ; 3652 cm⁻¹ et 3619 cm⁻¹ dues aux vibrations d'élongation des hydroxyles. Ces bandes ont fait l'objet de plusieurs études [11;20].

De profonds changements sont observés au niveau de l'intensité, de la forme et de la position des bandes d'absorption de MKB. Cela traduit qu'en plus de la déshydroxylation, une profonde modification de la structure alumino-silicatée du kaolin au cours de la montée de température est observée.

3.2. Aspect des films plastiques

Les films plastiques BP, BPKB et BPMKB obtenus ont été facilement démoulés et sont présentés sur la **figure 3**.



Figure 3: Photographies des films plastiques

3.3. Propriétés hydriques des films plastiques

3.3.1. Solubilité

La solubilité des bioplastiques élaborés dans le milieu aqueux est évaluée par la mesure de la perte de masse pendant le temps d'immersion. Le **tableau 3** présente les valeurs de la solubilité des films plastiques. La solubilité du film plastique renforcé au kaolin est plus faible que celle du film plastique non renforcé. La solubilité diminue lorsque le renfort est le métakaolin car celui-ci interagit fortement avec les macromolécules d'amidon. En effet, le métakaolin rend le film plastique moins hydrophile et plus stable. L'absence des groupements hydroxyles dans le métakaolin confère un caractère hydrophobe à la matrice entraînant ainsi la chute de la solubilité des composites. **Indrianti et al.**, ont observé la diminution de la solubilité des composites à base d'amidon de patate douce modifiée [21]. La perte de masse est non seulement liée à la dissolution d'une partie de la matrice mais également à une perte d'argile. Ce phénomène de double dissolution est prépondérant dans le composite BPKB.

Tableau 3 : Solubilité des films plastiques dans l'eau pure (% massique)

Films plastiques	BP	BPKB	BPMKB
Solubilité (% massique)	35,6±0,2	29,6±0,3	22,1±0,1

3.3.2. Adsorption d'eau

La **figure 4** présente la variation de la teneur en eau à l'équilibre en fonction de l'activité d'eau pour les films plastiques BP, BPKB et BPMKB.

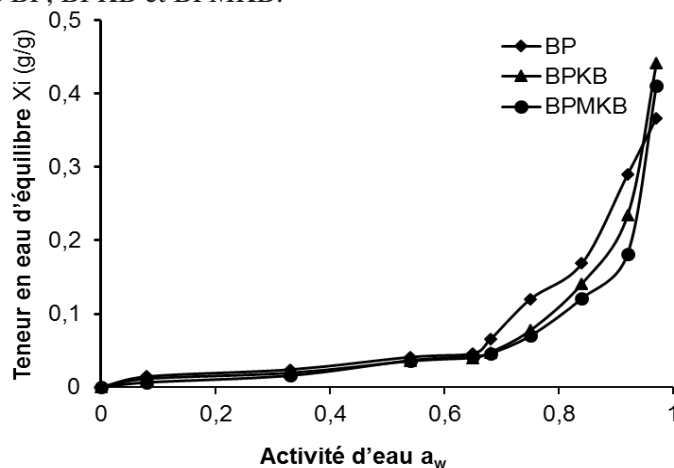


Figure 4 : Isothermes d'adsorption des films plastiques

Les courbes présentent une allure similaire à celle observée généralement pour les matériaux hydrophiles. Elles présentent deux phases : une première phase (0 à 0,7) où l'adsorption est faible et une autre où l'adsorption croît rapidement (a_w supérieur à 0,7). Pour les humidités relatives inférieures à 0,7 ; tous les films plastiques ont un comportement quasi identique. Pour les activités (a_w) comprises entre 0,7 et 0,9 ; les films plastiques BP et BPKB adsorbent légèrement un peu plus d'eau que BPMKB. Cette adsorption serait due à la présence de groupements polaires dans ces deux films. En effet, les groupements hydroxyles fixent les molécules d'eau plus facilement. Alors que dans le film plastique BPMKB, les interactions fortes entre les plaquettes de métakaolinite et les macromolécules ralentissent le phénomène d'adsorption. Ces observations sont similaires à celles faites avec l'amidon de blé extrudé [22].

3.3.3 Coefficients de diffusion et de perméabilité des films plastiques

La **figure 5** présente la variation de la masse d'eau adsorbée en fonction du temps pour les films plastiques BP, BPKB et BPMKB. La distribution des points est représentée par de régression linéaire dont le coefficient de détermination R^2 est proche de 1.

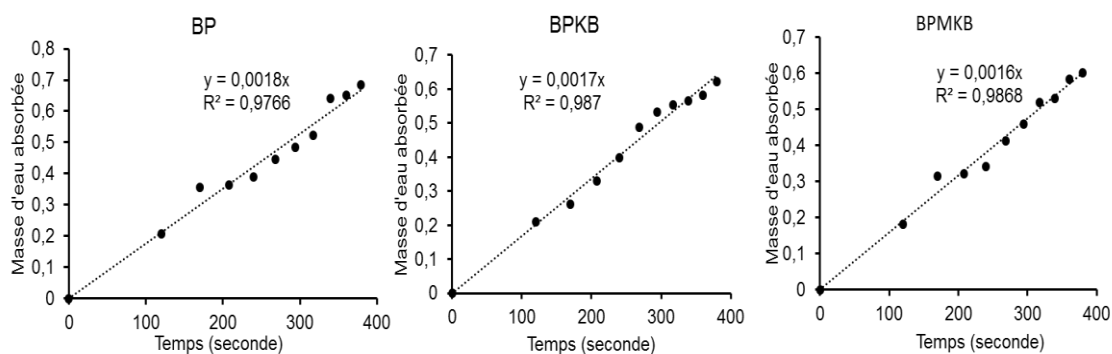


Figure 5 : Evolution de la masse d'eau absorbée en fonction du temps

Le **tableau 4** présente les coefficients de diffusion et de perméabilité des films plastiques.

Tableau 4 : Coefficients de diffusion et perméabilité des films plastiques

Films plastiques	Perméabilité ($10^{-11} \text{mol.m}^{-1} \text{s}^{-1} \text{Pa}^{-1}$)	Diffusion ($10^{-12} \text{m}^2 \text{s}^{-1}$)
BP	$3,78 \pm 0,03$	$3,58 \pm 0,04$
BPKB	$3,58 \pm 0,05$	$3,18 \pm 0,01$
BPMKB	$2,76 \pm 0,04$	$2,83 \pm 0,02$

La perméabilité et la diffusion du film plastique renforcé avec le métakaolin sont plus faibles que les deux autres films plastiques. Ces faibles valeurs pourraient s'expliquer par la diminution des pores dans le matériau BPMKB. Le traitement thermique de l'argile améliore sensiblement les propriétés hydriques des films plastiques. En effet, les interactions moléculaires entre les plaquettes de métakaolin et les groupements fonctionnels de l'amidon conduiraient à l'obtention d'un matériau plus compact. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par **Chivrac *et al.***, qui ont observé une diminution du coefficient de diffusion des films plastiques renforcés avec la montmorillonite [14].

3.3.4. Mécanisme d'interaction

Les propriétés hydriques de BPKB sont faibles par rapport à celle de BP. La solubilité de BP diminue en passant de 35,61% à respectivement 29,6% et 22,1% pour BPKB et BPMKB. En plus, les coefficients de diffusion et de perméabilité diminuent en présence des argiles mais beaucoup plus en présence du métakaolin. Ces résultats permettent de suggérer que le matériau renforcé au kaolin (BPKB) se comporte comme un mélange.

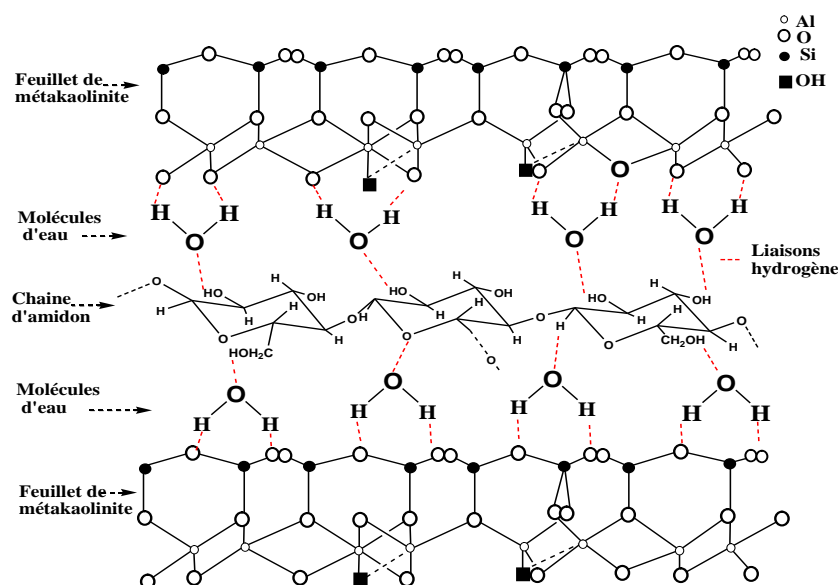


Figure 6: Représentation schématique des interactions moléculaires entre l'amidon et les plaquettes argileuses : cas de métakaolin

En revanche, le film plastique renforcé au métakaolin (BPMKB) présente des propriétés hydriques nettement améliorées (diminution de pores, faible fixation de molécules d'eau, faible dissolution, faible lessivage...). Cela laisse penser que le film plastique BPMKB se comporte comme un matériau composite. Ce comportement de BPMKB peut être expliqué par les interactions intermoléculaires entre les plaquettes de métakaolinite et les groupements fonctionnels de l'amidon. En effet, les atomes d'oxygène présents sur les surfaces basales des plaquettes de métakaolin interagissent avec les groupements fonctionnels de l'amidon par l'intermédiaire des molécules d'eau (**Figure 6**). Ces interactions aboutissent à la création de liaisons hydrogène, ce qui favorise l'amélioration des propriétés mécaniques du matériau final.

3.4 Biodégradabilité des films plastiques

3.4.2. Biodégradabilité par enfouissement dans le sol

La détermination de la perte de masse des bioplastiques dans le milieu de rejet est sans doute la méthode la plus simple pour analyser le comportement biodégradable d'un polymère.

La **figure 7** présente la perte de masse des films plastiques BP, BPKB et BPMKB pendant le temps d'enfouissement.

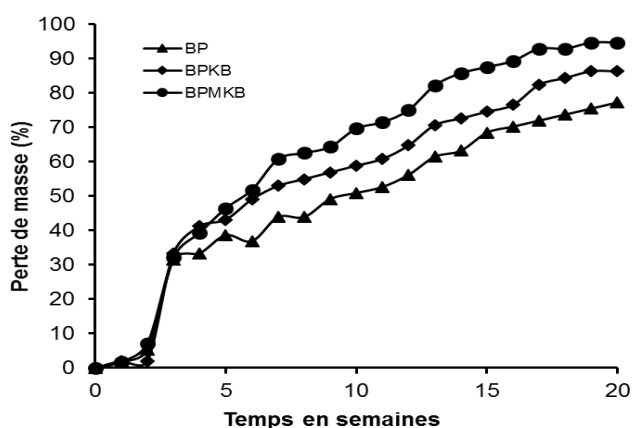


Figure 7: Perte de masse des films plastiques par enfouissement dans le sol

Les valeurs obtenues montrent une faible perte de masse pendant les deux premières semaines pour tous les films plastiques. Pendant cette période et jusqu'à la troisième semaine, la perte de masse est quasi identique quel que soit le film plastique. Après deux semaines, une augmentation rapide de la perte de masse est observée pour tous les films plastiques. Cette augmentation est plus importante pour BPKB et BPMKB après trois semaines. Le taux de dégradation de BP au bout de vingt semaines est de 77%. Pour BPKB et BPMKB, ce taux est respectivement de 86% et de 94%. La présence du kaolin et du métakaolin améliore la dégradation des films plastiques. En effet, la présence de l'argile dans les composites favorise la croissance des microorganismes responsables de la dégradation. Cette croissance des microorganismes est plus marquée en présence de métakaolin du fait probablement de la grande capacité d'adhérence des bactéries sur les surfaces plaquettes de métakaolinite [23].

3.4.3 Biodégradabilité à la surface du sol

Le comportement dans la nature des films plastiques en fin d'usage a été évalué à la surface du sol. La **figure 8** présente la variation de la perte de masse de BP, BPKB et BPMKB en fonction du temps.

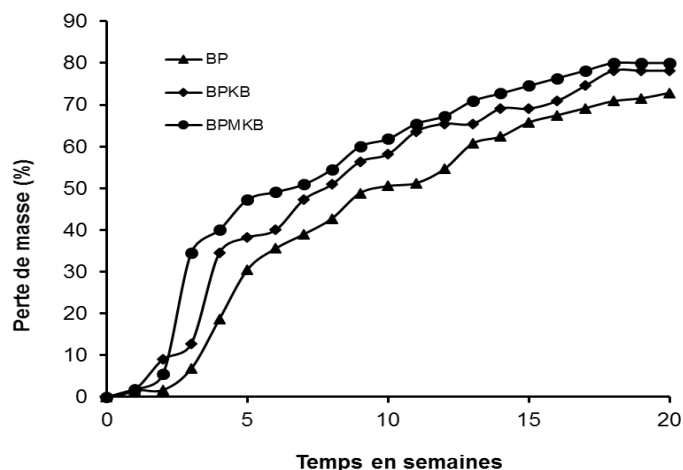


Figure 8 : Perte de masse des films plastiques à la surface du sol

Les valeurs obtenues montrent une faible perte de masse pendant les deux premières semaines pour tous les films plastiques. Pendant cette période, la perte de masse est quasi identique quel que soit le film plastique. Après vingt semaines, la perte de masse devient importante pour atteindre 72%, 78%, 80% respectivement pour BP, BPKB et BPMKB. La dégradation est donc plus marquée pour les films plastiques renforcés. La présence de l'argile dans la matrice est un atout pour la dégradation des films plastiques en fin d'usage.

3.4.1. Biodégradabilité *in vitro*

Pour comprendre la perte de masse importante des films plastiques BPKB et BPMKB, la biodégradabilité in-vitro a été réalisée (**figure 9**).



Figure 9: Images des films plastiques colonisés par des microorganismes

L'observation des boîtes de pétri révèle l'apparition de filaments, de nombreuses taches de différentes apparences et couleurs sur les milieux contenant BP, BPKB et BPMKB comme substrat. La présence des filaments ramifiés (BP) est due aux champignons tandis que la présence de taches colorées

(BPKB et BPMKB) est due aux bactéries. Pour le film plastique BPMKB, une forte présence de taches noires explique la forte dégradation du film plastique car les bactéries dégradent plus rapidement les films plastiques que les champignons [24].

3.4.4 Comparaison de la Biodégradabilité dans le sol et à la surface du sol

Le comportement des films plastiques en fonction du milieu de dégradation est très important. La **figure 10** présente la variation de la perte de masse de BP, BPKB et BPMKB en fonction du temps et du milieu de dégradation.

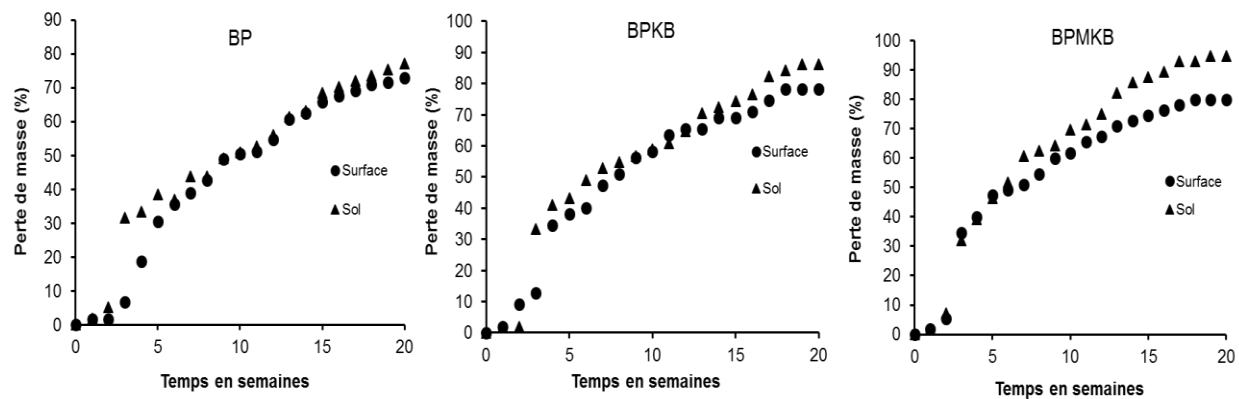


Figure 10 : Evolution de la biodégradabilité en fonction du milieu de dégradation

La perte de masse est plus importante lorsque les films plastiques BP, BPKB et BPMKB sont enfouis dans le sol. L'enfouissement dans le sol permet une plus grande exposition des films plastiques aux micro-organismes par rapport à la surface du sol. L'activité microbienne est plus importante dans le sol et l'aération est favorable pour une biodégradation importante. Le processus de dégradation dans le sol des échantillons se déroule en deux étapes :

- Fragmentation des films plastiques en microparticules
- Digestion des microparticules par les microorganismes

Pour le film plastique BP, la perte de masse n'est pas trop différente lorsque l'échantillon est enfoui, car un phénomène d'absorption de l'eau du sol compense la perte de masse.

Kale et al., ont montré que les conditions climatiques, le pH du milieu, l'environnement, les dimensions des films plastiques ont un impact sur la vitesse de biodégradation [25].

4. Conclusion

Ce travail a permis d'étudier l'influence d'un traitement thermique du kaolin sur la biodégradabilité et les propriétés hydriques des films plastiques élaborés à base d'amidon de manioc. Le métakaolin, produit du traitement thermique à 700°C du kaolin, est amorphe et déshydroxylé.

L'incorporation du métakaolin (MKB) a permis d'améliorer les propriétés hydriques (la sorption, solubilité, perméabilité, diffusion d'eau). Cette amélioration serait due aux fortes interactions interfaciales entre les plaquettes de métakaolinite et les macromolécules d'amidon. L'ensemble de ces

résultats a permis de montrer que le bioplastique renforcé au kaolin (KB) se comporte comme un mélange tandis que celui renforcé au métakaolin (MKB) se comporte comme un composite.

Les résultats liés à la biodégradation révèlent une amélioration de la biodégradabilité lorsque le renfort est le métakaolin. Cette amélioration de la biodégradation a été attribuée à une bonne dispersion du mélange, aux interactions entre particule de metakaolin et macromolécules d'amidon. Et aussi, à la grande capacité d'adhérence des bactéries sur les surfaces plaquettes de métakaolinite. Les films plastiques sont biodégradables dans le sol qu'à la surface du sol de films plastiques. Toutefois, l'enfouissement des films plastiques dans le sol favorise plus la dégradation.

L'amélioration des propriétés hydriques et le caractère biodégradable font de ces films plastiques des matériaux composites pouvant remplacer les plastiques conventionnelles dans quelques domaines (emballages ; électroniques ; médecine...)

5. Références

1. **Diañez, I., Martínez, I., & Gómez, P. A. (2020).** Effect of plasticiser on the morphology, mechanical properties and permeability of albumen-based nanobiocomposites. *Food Packaging and Shelf Life*, 24: 100499. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2020.100499>.
2. **Islam, H. B. M. Z., Susan, M. A. B. H., & Imran, A. B. (2020).** Effects of plasticizers and clays on the physical, chemical, mechanical, thermal, and morphological properties of potato starch-based nanocomposite films. *ACS Omega*, 5(28): 17543-17552. <https://dx.doi.org/10.1021/acsomega.0c02012>.
3. **Méité, N., Konan, L. K., Tognonvi, M. T., Goure-Doubi, B. I. H., Gomina, M., & Oyetola, S. (2020).** Properties of hydric and biodegradability of cassava starch-based bioplastics reinforced with thermally modified kaolin. *Carbohydrate Polymers*, 254: 117322. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117322>.
4. **Li, J., Zhou, M., Cheng, G., Cheng, F., Lin, Y., & Zhu, P.-X. (2019).** Fabrication and characterization of starch-based nanocomposites reinforced with montmorillonite and cellulose nanofibers. *Carbohydrate Polymers*, 210: 429-436. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.01.051>.
5. **Belyamani I., (2011):** Développement d'un matériau thermoplastique, biodégradable et hydrosoluble à base d'une protéine du lait, thèse de Doctorat de l'Université Jean Monnet de St Etienne, France.
6. **El Hadji B., (2008) :** Nouveaux matériaux composites thermoformables à base de fibres de cellulose, thèse de doctorat.
7. **Avérous L., (2004) :** Biodegradable Multiphase Systems Based on Plasticized Starch. *Journal of macromolecular science,C*, 44(3): p. 231-274.
8. **Konan K. L., Sei J., Soro N. S., Oyetola S., Gaillard J-M., Bonnet J-P., Kra G., (2006):** Caractérisation de matériaux argileux du site d'Azaguié-Blida (Anyama, Côte d'Ivoire) et détermination des propriétés mécaniques de produits céramiques. *J. Soc. Ouest- Afr. Chim.*, 021: p. 35-43.
9. **Sei J., Jumas J. C., Olivier-Fourcade J., Quiquampoix H., Straunton S., (2002):** Role of iron oxide in the phosphates adsorption properties of kaolinities from the Ivory Coast. *Clays and Clay Minerals*, 50: p. 212-224.
10. **Mbey J.A., Hoppe S., and Thomas F., (2012):** Cassava-starch kaolinite composite Film. Effect of clay content and clay modification on film properties. *Carbohydrate polymères*, 88(1): p. 213-222.
11. **Meite N., Konan, L.K., Bamba D., Goure-Doubi B.I.H., Oyetola S., (2018):** Structural and Thermomechanical Study of Plastic Films Made from Cassava-Starch Reinforced with Kaolin and Metakaolin. *Materials Sciences and Applications*, 2018. 9(1): p. 41-54.
12. **Greenspan L., (1977):** Humidity fixed points of binary saturated aqueous solutions. *Journal of research of the national bureau of standards*, 81(1): 89-96.
13. **Bagdi K., Muller P., Pukanszky B., (2006):** Thermoplastic starch/layered silicate composites: structure, intercalation, properties. *Composites Interfaces*, 13: 1-17.
14. **Chivrac F., Angellier-Coussy H., Guillard V., Pollet E., Avérous L., (2010):** How does water diffuse in starch/montmorillonite nano-biocomposite materials? *Carbohydrate Polymers*, 82(1): 128-135.
15. **Sidibé D., Sako A., Ezoua P., Kouame C., Dally L. I., Kati-Coulibaly S., (2009):** Comportement hydrothermique des amidons de 4 variétés de manioc (*Manihot esculenta* Crantz) cultivées en Côte d'Ivoire. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 3(6): 1467-1479.

16. **Mbey J. A., (2013):** Films composites amidon de manioc-kaolinite : Influence de la dispersion de l'argile et des interactions argile-amidon sur les propriétés des films. Thèse de doctorat de l'Université de Lorraine, France.
17. **Belibi P. C., (2013):** Elaboration et caractérisation des biofilms à base d'amidon de manioc renforcés par des charges minérales bi et tri- dimensionnelles. Thèse de Doctorat de l'Université de Haute – Alsace, France.
18. **Yeboue K. H., Amoikon K. E., Kouamé K. G., Kati-Coulibaly S., (2017):** Valeur nutritive et propriétés organoleptiques de l'attieké; de l'attoukpou et du placali, trois mets à base de manioc, couramment consommés en Côte d'Ivoire. *Journal of applied Biosciences*; **113**: 11184-11191.
19. **Soro N. S., Blanchard P., Aldon L., Olivier-Fourcade J., Jumes J. M., Bonnet J. P., (2003):** Role of Iron in mullite formation from kaolins by Mossbauer spectroscopy and rietveld refinement. *Journal of American Ceramic Society*, **86**: 129-141.
20. **Konan L. K., Soro J., Andji J. Y.Y., Oyetola S., Kra G., (2010):** Etude comparative de la déshydroxylation/amorphisation dans deux kaolins de cristallinité différente. *J. Soc. Ouest-Afr. Chim.*, **030**: 29-39.
21. **Indrianti N., Pranoto Y., Abbas A., (2018) :** Preparation and Characterization of Edible Films Made from Modified Sweet Potato Starch through Heat Moisture Treatment, *Ndones. J. Chem.*, 18(4): 679-689.
22. **Enrione J. I., Hill S. E., Mitchell J. R., (2007):** Sorption behavior of mixtures of glycerol and starch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(8): 2956–2963.
23. **Vidal O., Longin R., Prigent-Combaret C., Dorel C., Hooreman M., Lejeune P., (1998):** Isolation of an *Escherichia coli* K-12 mutant strain able to form biofilms on inert surfaces: involvement of a new ompR allele that increases curli expression. *Journal of Bacteriology*, 180 : 2442-2449.
24. **Nguyen M. T., (2007) :** Identification des espèces de moisissures, potentiellement productrices de mycotoxines dans le riz commercialisé dans cinq provinces de la région centrale du Vietnam -étude des conditions pouvant réduire la production des mycotoxines, thèse de doctorat de l'Université de Toulouse, France.
25. **Kale G., Kijchavengkul T., Auras R., Rubino M., Selke S. E., Singh S. P., (2007):** Compostability of Bioplastic Packaging Materials: An Overview. *Macromolecular Bioscience*, 7(3): 255-277.

Conception de surfaces nanostructurées avec des propriétés parahydrophobes par électrodéposition de polymères conducteurs

Thiam El hadji Yade^a, Sow Salif^a, Dramé Abdoulaye^a, Darmanin Thierry^b

^a Université Cheikh Anta Diop, Faculté des Sciences et Techniques, Département de Chimie, B.P. 5005 Dakar, Sénégal.

^b Université Côte d'Azur, NICE Lab, IMREDD, 61-63 Av. Simon Veil, 06200 Nice, France Fax :

(+33)492076156 ; Tél : (+33)492076159.

* yadethiam07@gmail.com

Résumé: La nature n'a pas fini de nous surprendre par la diversité des espèces ayant des propriétés étonnantes. Les pétales de rose ont inspiré beaucoup de chercheurs pour leurs propriétés antimouillantes.

C'est dans cette perspective que nous avons entrepris de contribuer au développement de méthodes d'élaboration de surfaces parahydrophobes. En effet, nous rapportons des surfaces obtenues par électropolymérisation du noyau de thiéno[3,4-b]thiophène substitué avec un noyau de phényle ou avec une chaîne perfluorobutane.

Les propriétés de surface sont très différentes selon le choix du substituant et du solvant utilisé pendant l'électropolymérisation. Cette dernière donne du point de vu morphologique des surfaces nanostructurées. Des propriétés de surface moins hydrophobes avec un angle de contact de 120° ont été obtenues avec le polymère PThiéno-Ph tandis qu'avec le polymère perfluoré PThiéno-F4, des propriétés hautement hydrophobes et une adhésion à l'eau extrêmement forte comme observée chez les pétales de rose ont été obtenues. La chaîne fluorée exerce ici un effet bénéfique sur l'augmentation de l'angle de contact via une diminution de l'énergie de surface du polymère.

De telles propriétés pourraient être exploitées à l'avenir dans des applications où le contrôle des forces d'interaction avec le milieu est nécessaire, comme dans les systèmes de collecte d'eau.

Mots clés : Parahydrophobe, Adhérence, Nanostructures, Electropolymérisation.

Design of nanostructured surfaces with parahydrophobic properties by electrodeposition of conductive polymers

Abstract: Nature has not finished surprising us with the diversity of species with amazing properties. Rose petals have inspired many researchers for their anti-wetting properties.

It is with this in mind that we have undertaken to contribute to the development of methods for the production of parahydrophobic surfaces. Indeed, we report surfaces obtained by electropolymerization of the thieno[3,4-b]thiophene ring substituted with a phenyl ring or with a perfluorobutane chain. The surface properties are very different depending on the choice of substituent and solvent used during electropolymerization. The latter gives a morphological view of nanostructured surfaces. Less hydrophobic surface properties with a contact angle of 120° were obtained with the PThieno-Ph polymer while with the perfluorinated polymer PThieno-F4, highly hydrophobic properties and extremely strong water adhesion as observed in rose petals were obtained. The fluorinated chain has a beneficial effect on increasing the contact angle by reducing the surface energy of the polymer. Such properties could be exploited in future applications where control of environmental interaction forces is required, such as in water collection systems.

Keywords: Parahydrophobic, Adhesion, Nanostructures, Electropolymerization

1. Introduction

Le contrôle de la mouillabilité de la surface est fondamental pour diverses applications pratiques, par exemple dans les textiles, les membranes de séparation huile/eau, les dispositifs microfluidiques, les bacs anti-adhésifs, les systèmes de récupération d'eau, les fenêtres antigel ou les peintures antisalissure [1-4]. La bioinspiration et la biomimétisme ont permis de résoudre des problèmes complexes de mouillabilité [5]. En effet, ce sont de nombreuses espèces dans la nature avec des propriétés spéciales de mouillabilité. C'est le cas de la superhydrophobie, caractérisée par un angle de contact apparent dans l'eau élevé et une faible adhérence dans l'eau [6-8]. Cette propriété est présente dans différentes espèces permettant d'avoir des avantages stratégiques tels que des propriétés autonettoyantes, anti-buée, ou la capacité de glisser à la surface de l'eau. D'autres espèces comme les pétales de rose ont la capacité de piéger les gouttelettes d'eau même dans des environnements arides ou chauds grâce à des surfaces parahydrophobes caractérisées par un angle de contact apparent de l'eau élevé mais une faible adhésion

de l'eau [9-12]. Tous ces exemples ont permis de trouver des paramètres clés pour le contrôle de la mouillabilité de surface, qui sont l'énergie de surface et la rugosité/structuration de surface.

Les stratégies pour contrôler à la fois les structures de surface et l'énergie de surface sont nombreuses dans la littérature et sont généralement classées en deux catégories appelées approche descendante et approche ascendante [13-15]. Pour préparer des surfaces structurées, l'électropolymérisation, une des approches ascendantes, est une technique très intéressante et rapide avec un contrôle par paramètres électrochimiques et la structure des monomères [16-12]. Cette technique consiste en l'oxydation électrochimique d'un monomère pour déposer des films polymères conducteurs sur une électrode de travail. Afin de contrôler également l'énergie de surface, des substituants peuvent être facilement greffés sur le monomère. Par exemple, les chaînes fluorocarbonées sont souvent utilisées pour les propriétés superhydrophobes tandis que les groupes aromatiques pour les propriétés parahydrophobes.

Les monomères de la famille du thiéno[3,4-b]thiophène ont un potentiel exceptionnel assez faible et donnent des polymères ayant des propriétés optoélectroniques uniques, dont des électrochromis cathodiques et anodiques à haute conductivité, multi-couleurs, des oxydoréductions rapides .

Dans ce travail, nous démontrons qu'avec la conception judicieuse de la structure du monomère thiéno[3,4-b]thiophène, il est possible d'obtenir des membranes nanoporeuses dont la taille et l'hydrophobicité de surface sont réglables. Des substituants rigides (par exemple, chaîne perfluorée, et groupe aromatique) ont été incorporés dans les monomères de thiéno[3,4b]thiophène (schéma 1) et leur efficacité à l'électropolymérisation a été explorée. Pour aller plus loin dans cette direction, nous avons voulu étudier comment les paramètres électrochimiques (solvant) ont influencés la fois sur la morphologie de surface et la mouillabilité. Par exemple, des structures tubulaires avec des propriétés anti-mouillantes exceptionnelles ont été obtenues mais seulement avec la chaîne fluorocarbonée (Thiéno-F4).

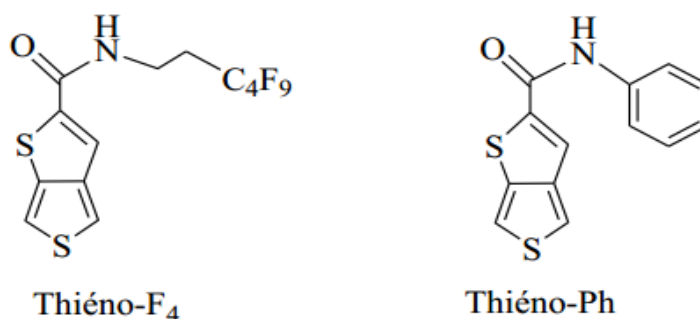


Schéma 1. Monomères originaux étudiés

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériels

- Les solvants utilisés diéthyle éther, éthanol, dichlorométhane, cyclohexane, DMF, DMSO et acétonitrile) proviennent chez Prolabo et sont utilisés sans aucune autre purification.
- Acide iminodiacétique, le N-(3-diméthylamino propyl)-N-éthylcarbodiimide (EDC) et le N, N-diméthyl aminopyridine (DMAP) sont tous arrivés de Sigma Aldrich.
- Les appareils utilisés pour la caractérisation sont : Résonance magnétique nucléaire (Bruker W-200 MHz), Tensiomètre (Tensiomètre Kruss K100, 25°), Microscopie électronique à transmission (TEM : Philips CM12 transmission electron microscope in negative contrast), Microscopie électronique à balayage (MEB : 6700F de JEOL), Potentiostat (Autolab PGSTAT 30 d'Eco Chimie B. V. Equipé du

logiciel General Purpose Electrochemical System: GPES) et le Goniomètre (DSA-10 de Kruss équipé du logiciel Drop Shape Analysis.

2.2. Méthodes

Les monomères ont été synthétisés selon les publications rapportées dans la littérature. D'une part, le principal intermédiaire est la molécule codée Thiéno-COOH obtenues en quatre étapes à partir du 3,4 dibromothiophène [15]. Pour obtenir les monomères de la série Thiéno-R, l'acide thiéno[3,4-b]thiophène-2- carboxylique a été mélangé à du chlorhydrate de N-(3-diméthylamino propyl)-N'-éthyl carbodiimide (EDC) et une quantité catalytique de 4-(diméthylamino) pyridine (DMAP) dans l'acétonitrile. Après 30 minutes d'agitation, l'amine aromatique ou perfluoré correspondante (disponible commercialement) a été ajoutée au mélange. Le milieu réactionnel est laissé sous agitation magnétique pendant deux jours à température ambiante, le produit brut est passé à travers la colonne de gel de silice (éluant : cyclohexane/éther diéthylique 50/50).

3. Résultats et discussion

3.1. Analyse des Voltammogrammes des monomères

L'électropolymérisation a été effectuée dans deux solvants CH_2Cl_2 ou $\text{CH}_2\text{Cl}_2 + \text{H}_2\text{O}$ en utilisant une concentration de 0,1 M de Bu_4NClO_4 et 0,01 M du monomère d'intérêt. La voltampérométrie cyclique a été choisie comme la méthode d'électrodéposition car elle permet d'obtenir un polymère robuste. Cela comprend l'oxydation et la polymérisation des monomères, l'oxydation et la réduction des polymères, ainsi que l'oxydation et la réduction de l'eau qui se révèle d'être responsable de la production de bulles de gaz O_2/H_2 [17]. Pour les monomères synthétisés dans cette étude, les potentiels d'oxydation (E_{ox}) ont été déterminés comme étant $\approx 1.54 - 1.70$ V. En utilisant cette information, les électrodépositions ont été effectuées à partir de -1V à la potentiel d'oxydation E_{ox} à un taux de balayage de 20 mV s^{-1} . Afin d'observer la croissance des polymères, le nombre de scanners était variable (1, 3 ou 5 scans). Des voltammogrammes cycliques représentatifs pour certains monomères (thiéno-F4, thiéno-Ph) sont présentés dans la figure 1. Ces voltammogrammes montrent clairement que l'intensité des pics d'oxydation/réduction des polymères est très élevée. Cela est probablement dû au fait que l'encombrement stérique est le plus faible avec ces substituants. Un petit pic à $\approx -0,5$ Vs SCE a également été détecté lors des scans dorsaux, mais cela est particulièrement évident lorsque le solvant est $\text{CH}_2\text{Cl}_2 + \text{H}_2\text{O}$. Dans des travaux antérieurs, ce pic particulier a été trouvé d'être très important pour la formation de structures poreuses et est attribuée à la formation de H_2 bulles de H_2O dans solution ($2\text{H}_2\text{O} + 2\text{e}^- \rightarrow \text{H}_2$ (bulles) + 2OH^-) [18- 19].

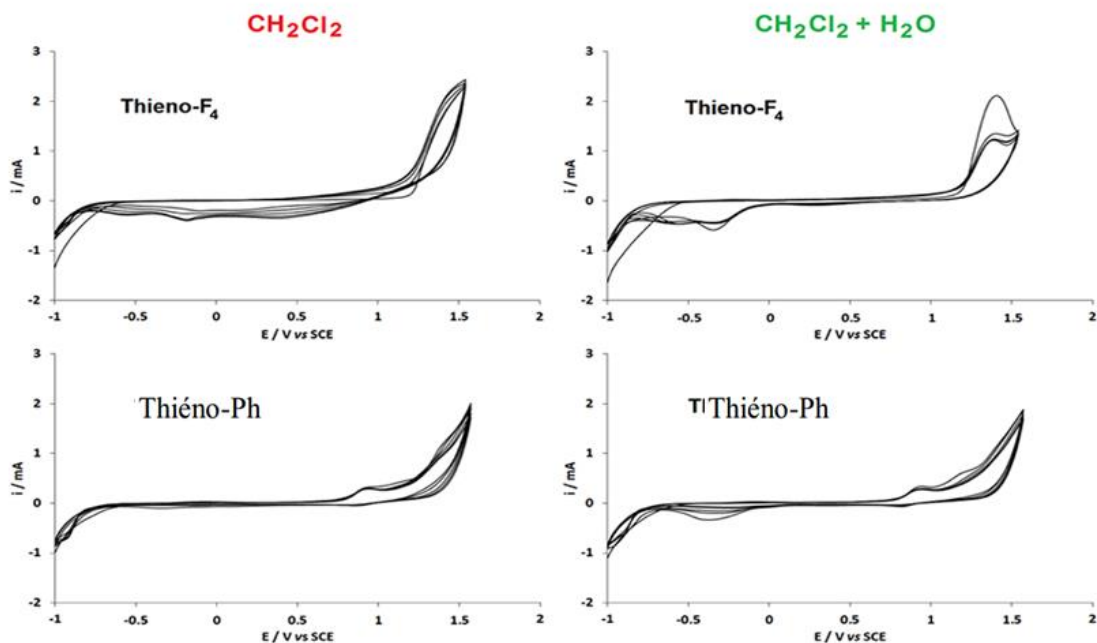


Figure 1: Voltammogrammes cycliques (3 balayages) des monomères (thiéno-F₄, thiéno-Ph,) dans CH₂Cl₂ (colonne de gauche) et CH₂Cl₂ + H₂O Vitesse de balayage : 20 mV s⁻¹.

3.2. Analyse des images MEB des surfaces

Les morphologies de surface obtenues après l'électrodéposition par voltampérométrie cyclique (3 balayages) de tous les monomères dans CH₂Cl₂ et de CH₂Cl₂ + H₂O sont mis en évidence dans la figures 2. Il ressort clairement de ces images que, la teneur en eau dans le solvant a un impact significatif sur la morphologie de la surface. En utilisant ces monomères, on a observé à la fois la présence de nanoparticules et de nanotubes.

Plus particulièrement, tous les films préparés avec du CH₂Cl₂ comme solvant sont non poreux (colonne de gauche, figures 2). Avec le thiéno-Ph, la morphologie de la surface avec CH₂Cl₂ comme solvant est très lisse. Par contre des rides sont observées sur la surface du film polymère du thiéno-F₄. Contrairement aux surfaces polymérisées avec du CH₂Cl₂, les films préparés dans du CH₂Cl₂ + H₂O (à droite les colonnes, figures 2) sont tous poreuses. Avec le thiéno-Ph comme monomère, la morphologie est constituée de caractéristiques tubulaires, tandis que des membranes nanoporeuses sont obtenues avec le monomère thiéno-F₄.

En ce qui concerne la mouillabilité de surface, la présence de nanotubes induit une forte augmentation de l'hydrophobicité de surface. Les propriétés de surface les plus élevées avec un angle de contact de 131° ont été obtenues avec Thiéno-F₄ en raison de la couverture élevée en nanoparticules sur la surface à haute porosité. Ceci est attendu en raison de la présence de la chaîne perfluorée qui réduit considérablement l'énergie de surface du polymère. En effet, les gouttelettes d'eau restent complètement collées sur ce surface quelle que soit l'inclinaison de la surface. Ces propriétés parahydrophobes sont extrêmement intéressantes et ces types de surfaces pourrait être utilisé à l'avenir dans les systèmes de collecte des eaux.

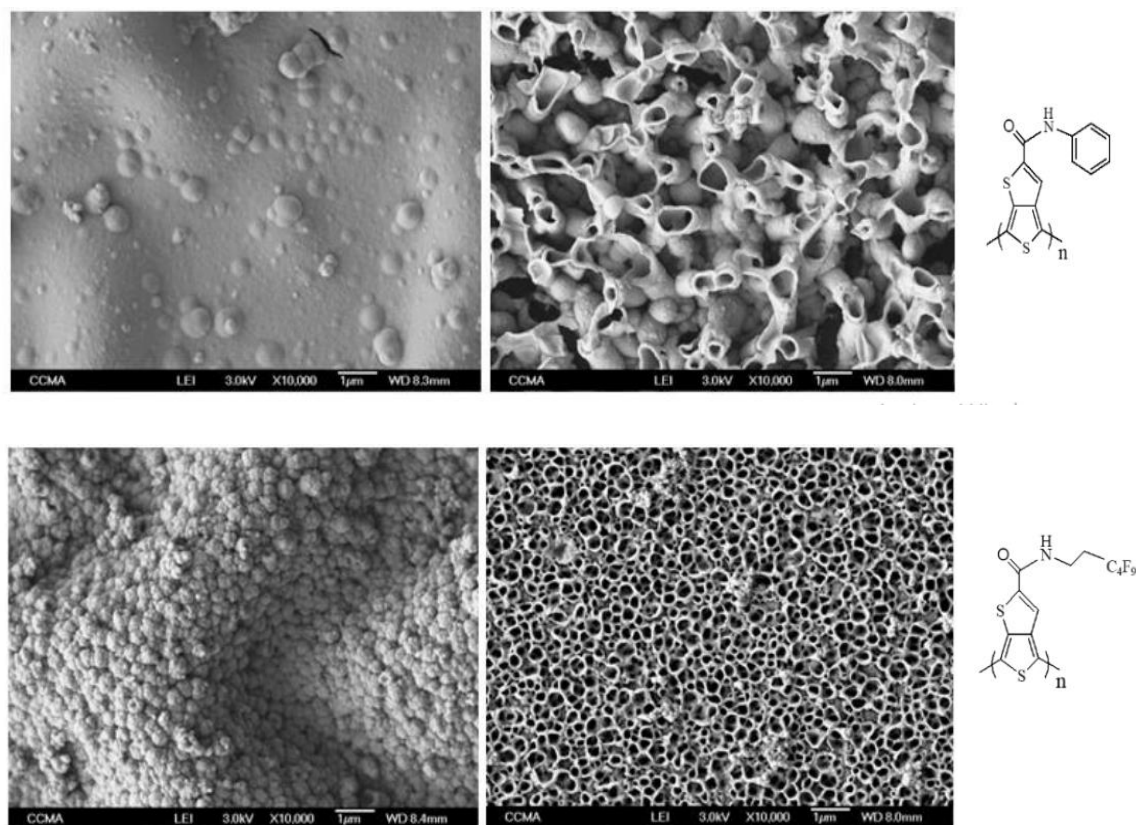


Figure2: Images MEB x10000 de la morphologie de surface du PThiéno-Ph et PThiéno-F4 par voltampérométrie cyclique après 3 balayages et en utilisant CH_2Cl_2 (colonne de gauche) et $\text{CH}_2\text{Cl}_2 + \text{H}_2\text{O}$ (colonne de droite) comme solvant.

4. Conclusion

Dans ce travail, nous avons démontré la capacité d'obtenir des structures nanotubulaires et nanoporeuses en utilisant une méthode d'électropolymérisation dans le solvant organique (CH_2Cl_2) et sans l'aide d'un agent de surface. Des morphologies de surfaces tubulaires avec un angle de contact élevé ont été obtenues lorsqu'une fraction importante de l'eau est incluse dans le solvant d'électrodéposition (par exemple, $\text{CH}_2\text{Cl}_2 + \text{H}_2\text{O}$). L'inclusion d'eau dans le mélange de solvant a entraîné une forte rugosité de surface, car les surfaces formées par électrodéposition dans du CH_2Cl_2 sont relativement lisse. De nombreuses applications pourraient être envisagées pour ces surfaces en membranes de séparation, dispositifs ou capteurs optoélectroniques.

5. Bibliographie

- [1] K. Liu, X. Yao, L. Jiang, Recent developments in bio-inspired special wettability, *Chem. Soc. Rev.* 39 (2013) 3240–3255.
- [2] H. Liu, Y. Wang, J. Huang, Z. Chen, G. Chen, Y. Lai, Bioinspired surfaces with superamphiphobic properties: concepts, synthesis, and applications, *Adv. Funct. Mater.* 28 (2018) 1707415.
- [3] M. Nosonovsky, B. Bhushan, Superhydrophobic surfaces and emerging applications: non-adhesion, energy, green engineering, *Curr Opin. Colloid Interface Sci.* 14 (2009) 270–280.
- [4] X. Tian, T. Verho, R. H. A. Ras, Moving superhydrophobic surfaces toward real-world applications, *Science* 352 (2016) 142–143
- [5] T. Darmanin, F. Guittard, Superhydrophobic and superoleophobic properties in nature, *Mater. Today* 18 (2015) 273–285.

- [6] K. Koch, B. Bhushan, W. Barthlott, Multifunctional surface structures of plants: an inspiration for biomimetics, *Prog. Mater. Sci.* 54 (2009) 137–178.
- [7] M. Sun, G.S. Watson, Y. Zheng, J. A. Watson, A. Liang, Wetting properties on nanostructured surfaces of cicada wings, *J. Exp. Biol.* 212 (2009) 3148–3155.
- [8] Z. Sun, T. Liao, L. Sheng, J.H. Kim, S.X. Dou, J. Bell, Fly compound-eye inspired inorganic nanostructures with extraordinary visible-light responses, *Mater. Today Chem.* 1–2 (2016) 84–89.
- [9] O Sane.; A Diouf.; G.M Cruz.; F Savina.; R.M Renault.; S Amigoni.; S.Y Dieng.; F Guittard.; T Darmanin.; Nanotubular structures through templateless electropolymerization using thieno[3,4-b]thiophene derivatives with different substituents and water content., *Electrochimica Acta.*, **2019**, 320,1-14.
- [10] A Drame.; T Darmanin.; S.Y Dieng.; E.T.de Givenchy.; F Guittard.; Superhydrophobic and oleophobic surfaces containing wrinkles and nanoparticles of PEDOT with two short fluorinated chains., *RSC Adv.*, **2014**, 4, 10935-10943.
- [11] J El-Maiss.; E.T de Givenchy.; S Amigoni.; J Eastoe.; M Sagisaka.; F Guittard.; Superhydrophobic Surfaces with Low and High Adhesion Made from Mixed (Hydrocarbon and Fluorocarbon) 3,4-Propylenedioxythiophene Monomers., *Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics.*, **2014**, 52, 782-788.
- [12] K.C Smeltz.; W Del.; in Handbook.; Fluorocarbon and related chemistry., *The chemical Society.*, **1970**, 3, 4780.
- [13] B Boutevin; E.B Dongala; Y Piétrasantá.; Polyesterification of halogen containing difunctional compounds., *Journal of Fluorine Chemistry.*, **1981**, 17, 113-126
- [14] T.L Ho.; The hard soft acids bases (HSAB) principle and organic chemistry., *Chem. Rev.*, **1975**, 75, 1-20.
- [15] W Le Nobel.; H.F Morris.; Oxygen vs carbon alkylation of ethyl acetoacetate., *J.Org. Chem.*, **1969**, 34, 1969-1973.
- [16] A Diouf.; E.T de Givenchy.; S.Y Dieng.; A Dramé.; S Amigoni.; T Darmanin.; F Guittard.; Surface Properties of New Catanionic Semi-Fluorinated Hybrid Surfactants., *J. Fluor. Chem.*, **2014**, 161, 60-65.
- [17] A Dramé.; E. de Givenchy.; S.Y Dieng.; S Amigoni.; O Sy.; A Diouf.; T Darmanin.; F Guittard.; One F -Octyl versus Two F -Butyl Chains in Surfactant Aggregation Behavior., *Langmuir*, **2013**, 29, 14815-14822.
- [18] J El-Maiss.; T Darmanin.; F Guittard.; Low Bioaccumulative Materials for Parahydrophobic Nanosheets with Sticking Behaviour., *J. Colloid Interface Sci.* **2014**, 447, 167-172.
- [19] J El-Maiss.; T Darmanin.; F Guittard.; Controlling Electrodeposited Conducting Polymer Nanostructures with the Number and the Length of Fluorinated Chains for Adjusting Superhydrophobic Properties and Adhesion., *RSC Adv.*, **2015**, 5, 37196-37205.

Investigation structurale sur l'arrangement des molécules de bisphénol-A dans les espaces inter-feuillets des organo-argiles

Issaka Garikoé¹, Brahim Sorgho¹, Corneille Bakouan¹, Boubié Guel¹ and Ingmar Persson²

¹ Laboratoire de Chimie Moléculaire et des Matériaux, Université Joseph KI-ZERBO, UFR/SEA 03 BP 7021, Burkina Faso

² Department of Molecular Sciences, Swedish University of Agricultural Sciences, P.O.Box 7015, SE-750 07 Uppsala, Sweden

Résumé : L'arrangement des molécules de bisphénol A (BPA) dans les organo-smectites et leurs interactions avec les surfactants intercalés ont été étudiés. Les organo-smectites ont été préparées par l'intercalation à l'état solide de quatre surfactants, tels que les bromures de dodécyltriméthylammonium, de tétradécyltriméthylammonium, de hexadécyltriméthylammonium, et de didodécyldiméthylammonium à différents taux de chargement de la capacité d'échange cationique de deux argiles. Les argiles brutes et les organo-argiles avant et après adsorption ont été caractérisées par la diffraction de rayon X (DRX), la spectroscopie infrarouge (IR-TF) et la microscopie électronique à balayage (MEB). La DRX a montré une expansion successive des espaces inter-feuillets dues à l'intercalation des surfactants et à l'adsorption du BPA. L'augmentation des distances basales d_{001} des organo-argiles après l'adsorption du BPA indique que les molécules sont intégrées entre les chaînes alkyls des surfactants dans les couches intercalaires des organo-argiles. La spectroscopie IR a permis de confirmer l'intercalation des molécules de surfactants de BPA. Les nouvelles bandes caractéristiques attribuées aux groupes aromatiques du BPA apparaissent entre 1518-1613 cm^{-1} sur les spectres IR des organo-argiles épuisées, prouvant la présence du BPA dans les espaces inter-feuillets hydrophobes. La MEB des organo-argiles avant et après adsorption du BPA prouve que leur morphologie devient pelucheuse.

MOTS-CLÉS : Smectite, Organo-smectite, surfactant, Intercalation

Structural investigation on the bisphenol A molecules arrangement in the organoclays interlayers

Issaka Garikoé¹, Brahim Sorgho¹, Corneille Bakouan¹, Boubié Guel¹ and Ingmar Persson²

¹ Laboratoire de Chimie Moléculaire et des Matériaux, Université Joseph KI-ZERBO, UFR/SEA 03 BP 7021, Burkina Faso

² Department of Molecular Sciences, Swedish University of Agricultural Sciences, P.O.Box 7015, SE-750 07 Uppsala, Sweden

Abstract : The arrangement of bisphenol-A (BPA) molecules into organosmectites and their interactions with the intercalated surfactant were studied. The organosmectites were prepared via solid-state intercalation of four cationic surfactants, such as dodecyltrimethylammonium, tetradecyltrimethylammonium, hexadecyltrimethylammonium, and didodecyldimethylammonium, as bromide salts, at different loading levels into the interlayers of two natural clays. The natural clays, the prepared organoclays and the spent organoclays were characterized by X-ray diffraction (XRD), infrared spectroscopy (FT-IR) and Scanning electron microscopy (SEM). XRD measurements showed successive interlayer expansions of the d_{001} basal spacing due to the intercalation of the cationic surfactants and the BPA sorption. The increasing of the d_{001} basal spacing of the organoclays after BPA sorption indicates that the molecules are inserted between the alkyl chains of the surfactant in the organoclays interlayers. Infrared was employed to probe the intercalation of the cationic surfactants and the sorbed BPA. New characteristic bands attributed to the BPA phenol rings appear in the range 1518-1613 cm^{-1} on the infrared spectra of the spent organoclays, proving the presence of BPA in the hydrophobic interlayers. SEM images of the organoclays before and after BPA sorption show that their morphology become fluffy and that the presence of the organic molecules expands the clay structure.

KEYWORDS: Smectite, Organo-smectite, Surfactant, Intercalation

Introduction

Le bisphénol A (BPA) est un perturbateur endocrinien qui peut causer des risques à la santé humaine aux faibles concentrations [1]. Le BPA est suspecté d'être à la base des dommages du foie et du pancréas, de la rupture des fonctions thyroïdienne et hormonale, de l'obésité, du diabète, de la puberté précoce, etc. [1]. Ainsi, en raison des effets négatifs du BPA sur la santé humaine, plusieurs études utilisant des méthodologies appropriés, fiables, et à faible coût ont été entreprises pour son élimination des sources aqueuses.

Parmi plusieurs techniques de traitement, telles que les procédés d'oxydation avancé [2], la filtration sur membrane [3], la minéralisation électrochimique [4], l'adsorption est fortement favorisée en raison de

sa simplicité, sa rentabilité, sa facilité d'emploi et son rendement élevé. Nos études précédentes ont montré que les organo-argiles à base d'argiles locales (référénciées AH et DI) et de quatre surfactants (référénciés C₁₂, C₁₄, C₁₆, 2C₁₂) ont une grande capacité d'élimination pour le BPA dans l'eau [5]. Ces études ont indiqué que le mécanisme d'adsorption du BPA par les organo-argiles est mieux décrite par la cinétique d'ordre pseudo-deux et l'isotherme de Langmuir, avec une capacité d'adsorption maximale en milieu acide et l'implication de la physisorption et de la chimisorption [5]. Le pH du mélange réactionnel est un facteur important au regard de la diminution des capacités d'adsorption des organo-argiles en milieu très basique. Cette diminution s'expliquerait par les répulsions électrostatiques entre la charge négative à la surface de l'argile et les anions bisphénolates mais aussi par le fait que l'hydratation des groupes phénolates rend difficile l'insertion du BPA dans l'espace inter-feuillets hydrophobe. Des résultats similaires ont été rapportés par Park et al. [6]; Dong et al. [7]; et Xu et al. [8].

Bien que les organo-argiles aient montré une grande efficacité pour l'adsorption en batch du BPA [9], le processus d'adsorption est décrit et interprété diversement. En effet, la chimisorption, la physisorption, les interactions hydrophobes, les interactions $\pi^*-\pi$, la formation de pont-hydrogène ou la combinaison de deux ou trois de ces interactions avec ou sans prédominance d'une des interactions ont été associées à l'adsorption du BPA par les organo-argiles [6,9]. Cette diversité d'interprétation indique la nécessité de mener des investigations pouvant conduire à une meilleure compréhension de la rétention des molécules de BPA par les organo-argiles. En général, deux types de rétention des molécules organiques sont discutés dans la littérature, à savoir la rétention surfacique des molécules par les organo-argiles [9] et l'insertion des molécules dans l'espace inter-feuillets des organo-argiles [10,11]. Toutefois, ces deux types de rétention pourraient également coexister. Par ailleurs, bien que la caractérisation des organo-argiles épuisées puisse contribuer à l'élucidation du processus de rétention du BPA par les organo-argiles, peu d'investigations y ont été consacrées. En conséquence, la diffraction des rayons X (DRX), la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IR-TF), et la microscopie électronique à balayage (SEM) ont été utilisées dans le présent travail pour analyser le processus de rétention du BPA par les organo-argiles.

La présente étude vise à obtenir une meilleure compréhension : (i) du processus de rétention des molécules de BPA par les organo-argiles ; (ii) des interactions entre les molécules de BPA et celles des surfactants; et (iii) le réarrangement des chaînes alkyls des surfactants après adsorption du BPA.

2. Matériel et méthodes expérimentales

2.1. Matériel

Préparation des organo-argiles : Les organo-argiles ont été préparés selon la méthode rapportée précédemment [12] et les organo-argiles sont étiquetées comme par exemple 1,0 CEC-C₁₂-AH.

Collecte des argiles et des organo-argiles épuisées : Après adsorption du BPA, les argiles et les organo-argiles épuisées ont été rassemblées, séchées à la température ambiante, puis dans un four à 105 °C pendant 24 heures. Les argiles et les organo-argiles épuisées après adsorption du BPA sont étiquetées comme en exemple : BPA-AH et 1,0 CEC-C₁₂-BPA-AH.

2.2 Méthodes expérimentales

Les argiles (ou organo-argiles) avant et après adsorption du BPA ont été caractérisés par la Diffraction des rayons X (DRX), la spectrométrie infrarouge (IR-TF) et la microscopie électronique à balayage (MEB). Les diffractogrammes des échantillons ont été enregistrés dans la gamme d'angle 2 θ compris entre 1,06-32 ° avec un pas 0,2° [12] à l'aide d'un Diffractomètre PANalytical (Mo(K α_1)=0,71073 Å). Les spectres IR ont été enregistrés par un spectromètre Perkin Elmer precisely Spetrum 100 dans la gamme de 400-4000 cm⁻¹ en utilisant la technique du disque pressé. La microscopie électronique à balayage a réalisée avec un appareil de marque Hitachi S-3400 N, avec une résolution de 25,0 nm en mode pression variable.

3. Résultats et Discussion

3.1. Diffraction des rayons X

3.1.1. Cas des argiles brutes

La **figure 1** montre les diffractogrammes des argiles brutes avant et après adsorption du BPA. Les diffractogrammes des argiles brutes avant et après adsorption montrent que les argiles AH et DI adsorbent moins le BPA. En effet, la distance basale d₀₀₁ de AH et DI augmente de 15,3 Å à 16,5 Å après adsorption, indiquant une faible augmentation des distances basales, donc une faible adsorption du BPA. Ces résultats confirment ceux obtenus par analyse chromatographique [5]. Cette légère

augmentation de la distance basale d_{001} des argiles AH et DI indique une adsorption surfacique du BPA ou que seulement quelques molécules de BPA pénètrent dans l'espace inter-feuillet de la Ca-montmorillonite.

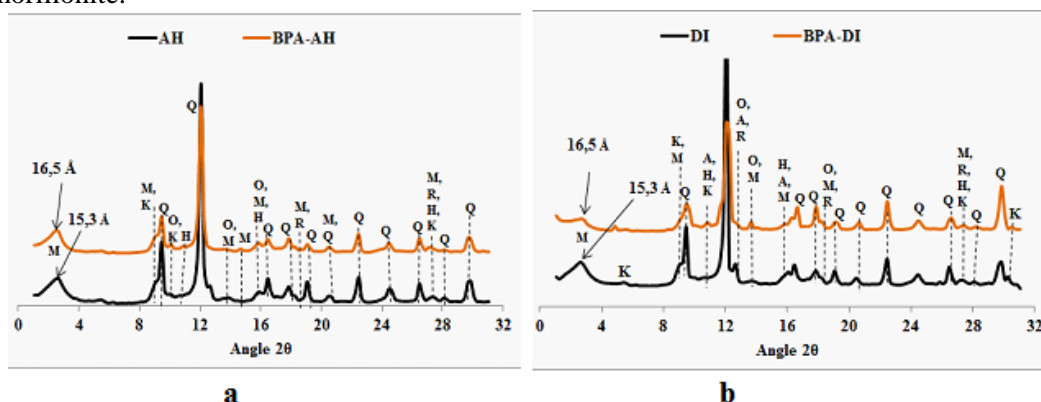


Figure 1 : DRX. *a* : AH avant et après adsorption et *b* : DI avant et après adsorption du BPA. Q= quartz, M = montmorillonite, K = Kaolinite, H = Hématite, R = Rutile, O = Orthoclase et A = Anorthite. Cette faible capacité adsorption du BPA par les argiles AH et DI est conforme à celles rapportées par Styszko et al., Alkaram et al. qui ont indiqué que la montmorillonite, la bentonite ou la kaolinite non modifiées avaient une faible capacité d'adsorption pour les composés phénoliques [13,14]. Selon Li et al., les oxydes de fer tels que l'hématite ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$) a une faible capacité d'adsorption en vers le BPA (2,7%) [15]. Kaplan et al. ont rapporté un taux d'adsorption de 3 à 5% du BPA pour une concentration de 10 mg/L par le rutile [16]. Au regard de ces résultats, l'hématite (AH : 9% et DI : 5%) et le rutile (AH : 2% et DI : 1%) présents dans AH et DI contribueraient très peu à l'adsorption du BPA. Ainsi, les faibles quantités de BPA adsorbées seraient dues à la montmorillonite et à la kaolinite contenues dans AH et DI.

3.1.2. Cas des organo-argiles

Les figures 2 à 5 montrent les diffractogrammes des organo-argiles avant et après adsorption.

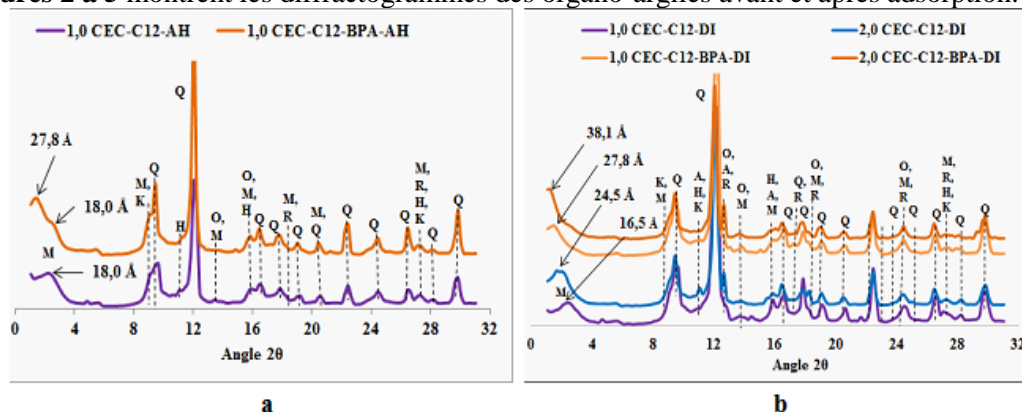


Figure 2 : DRX. *a* : 1,0 CEC- C_{12} -AH avant et après adsorption et *b* : 1,0 CEC- C_{12} -DI, 2,0 CEC- C_{12} -DI avant et après adsorption. Q= quartz, M = montmorillonite, K = Kaolinite, H = Hématite, R = Rutile, O = Orthoclase et A = Anorthite

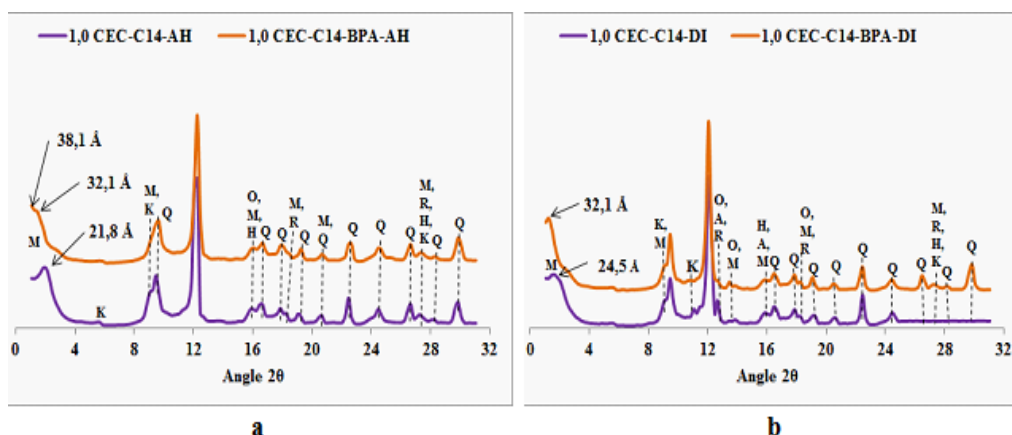


Figure 3 : DRX. *a* : 1,0 CEC-C₁₄-AH avant et après adsorption et *b* : 1,0 CEC-C₁₄-DI avant et après adsorption. Q= quartz, M = montmorillonite, K = Kaolinite, H = Hématite, R = Rutile, O = Orthoclase et A = Anorthite

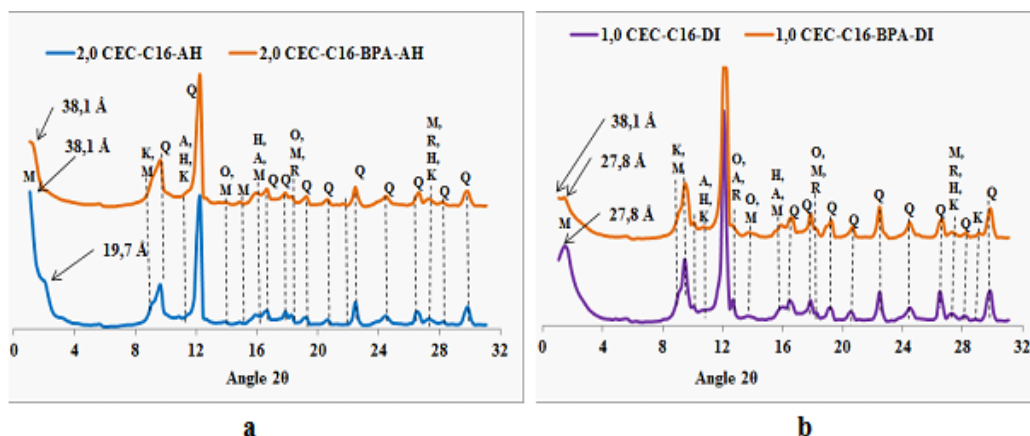


Figure 4 : DRX. *a* : 2,0 CEC-C₁₆-AH avant et après adsorption et *b* : 1,0 CEC-C₁₆-DI avant et après adsorption. Q= quartz, M = montmorillonite, K = Kaolinite, H = Hématite, R = Rutile, O = Orthoclase et A = Anorthite

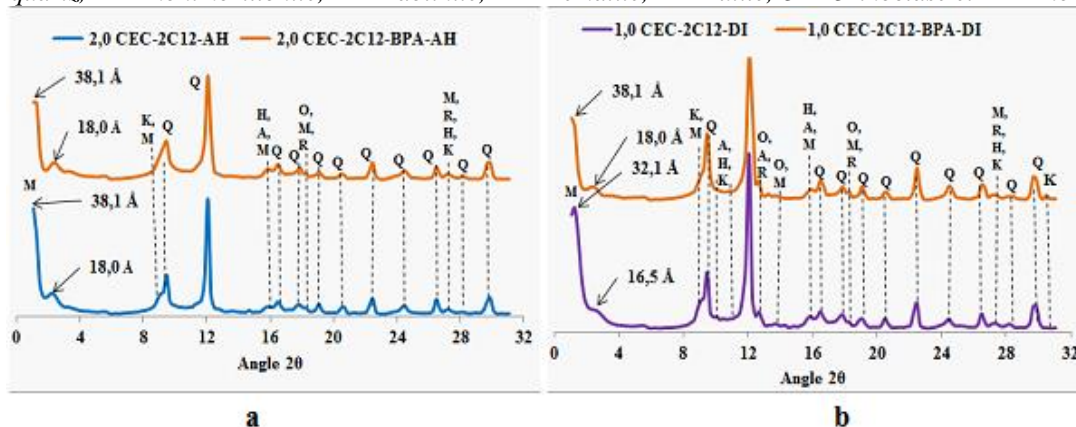


Figure 5 : DRX. *a* : 2,0 CEC-2C₁₂-AH avant et après adsorption et *b* : 1,0 CEC-2C₁₂-DI avant et après adsorption du BPA. Q= quartz, M = montmorillonite, K = Kaolinite, H = Hématite, R = Rutile, O = Orthoclase et A = Anorthite

Les diffractogrammes (**Figures 2 à 5**) montrent que la distance basale d_{001} des organo-argiles augmente significativement après adsorption des molécules de BPA. Cette augmentation prouve que les organo-argiles adsorbent bien les molécules de BPA et la physisorption serait impliquée dans l'élimination du BPA. Ces résultats montrent que les organo-argiles à base des argiles AH et DI sont efficaces pour l'élimination du BPA en solution aqueuse. *Zhang et al.* ont rapporté une légère diminution de la distance basale des C₁₂- et C₁₆-montmorillonites après adsorption du 4-chlorophénol et du 2,4-dichlorophénol [17]. *Liu et al.* ont indiqué une faible augmentation de la distance basale des organo-argiles après adsorption du BPA [18]. Contrairement aux résultats rapportés par *Zhang et al.*, *Liu et al.*, la présente étude indique clairement une augmentation des distances basales (d_{001}) des organo-argiles après adsorption du BPA [17,18]. Ces résultats sont similaires à ceux rapportés lors de l'adsorption du

naphtalène sur la C₁₆-montmorillonite et des alcanes (C₆ et C₈) sur des organo-bentonites et celle du 2-chloroaniline sur des argiles modifiées par la ditallowylammonium diméthylque [10,11]. L'augmentation des distances basales d_{001} des organo-argiles après adsorption indique que les molécules de BPA entrent dans l'espace inter-feuillet des organo-argiles [10,11] contrairement aux résultats rapportés par Liu *et al.* [18]. Kamitori *et al.* ont étudié la structure cristalline du n-C₁₂H₂₅(CH₃)₃N)Br et du complexe n-C₁₂H₂₅(CH₃)₃N)Br/*P*-phénylphénol et ont montré que les molécules de *P*-phénylphénol sont prises en sandwich entre les chaînes alkyls (C₁₂H₂₅-) [19]. Ainsi, il nous paraît raisonnable que les molécules de BPA sont organisées de la même manière à l'intérieur de l'espace inter-feuillet des organo-argiles. L'insertion de molécules de BPA dans l'espace inter-feuillets des Ca-montmorillonite occasionnerait la coexistence de plusieurs types d'interactions. La **figure 6** indique les types d'arrangements et d'interactions possibles des molécules de BPA (formes moléculaires, ions mono-anioniques) avec les surfactants et les feuillets argileux de la Ca-montmorillonite.

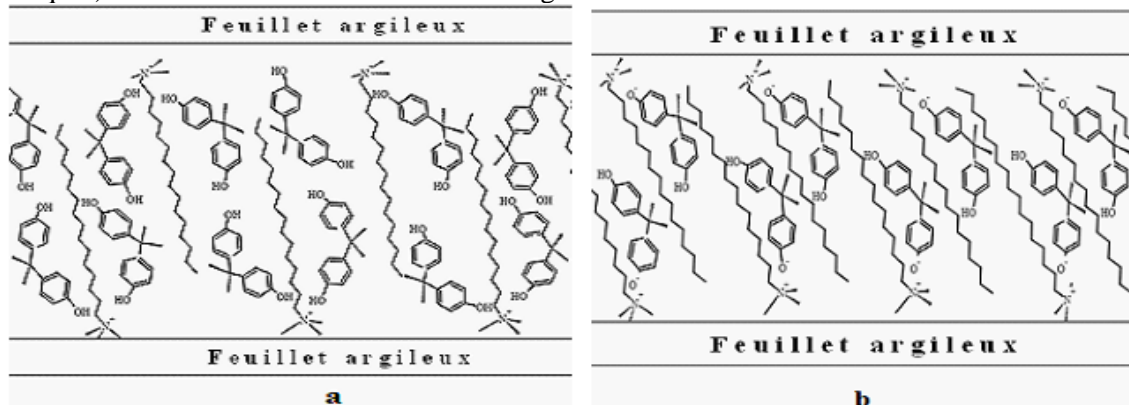


Figure 6 : Mécanismes d'interaction des molécules neutres et mono-ionisées du BPA avec les centres azotés des surfactants

Les phases argileuses non gonflantes (kaolinite, orthoclase, anorthite) et les minéraux non argileux (quartz, rutile, hématite) pouvant contribuer à la rétention des molécules de surfactants [13,20-23] participeraient à l'adsorption du BPA par les organo-argiles.

3.2. La spectrométrie infrarouge

3.2.1. Cas des argiles brutes

La **figure 7** représente les spectres infrarouges du BPA pur et des argiles brutes avant et après adsorption.

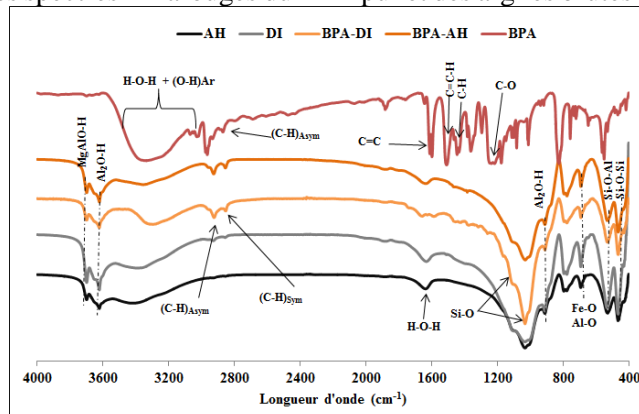


Figure 7 : Spectres infrarouges de : AH, DI, BPA-AH, BPA-DI et BPA pur.

Les spectres infrarouges des argiles AH et DI après adsorption du BPA montrent l'apparition de nouvelles bandes à 2854 cm⁻¹ et à 2926 cm⁻¹ qui sont attribuées respectivement aux vibrations d'élongations symétriques et asymétriques des groupes méthyles des molécules de BPA. L'absence des bandes de vibration des groupes C=C et C-H aromatiques, caractéristiques des molécules de BPA, confirme une faible adsorption du BPA comme l'indiquent la DRX et la CLHP.

3.2.2. Cas des organo-argiles

Les spectres infrarouges des organo-argiles après adsorption ont été réalisés afin de les comparer aux spectres d'avant adsorption. Cette comparaison nous a permis d'obtenir des informations sur la structure

des argiles et des organo-argiles après adsorption. La **figure 8** représente en exemple, les spectres infrarouges des argiles brutes, des organo-argiles chargées à 1,0 CEC et à 2,0 CEC du surfactant C₁₂ avant et après adsorption du BPA.

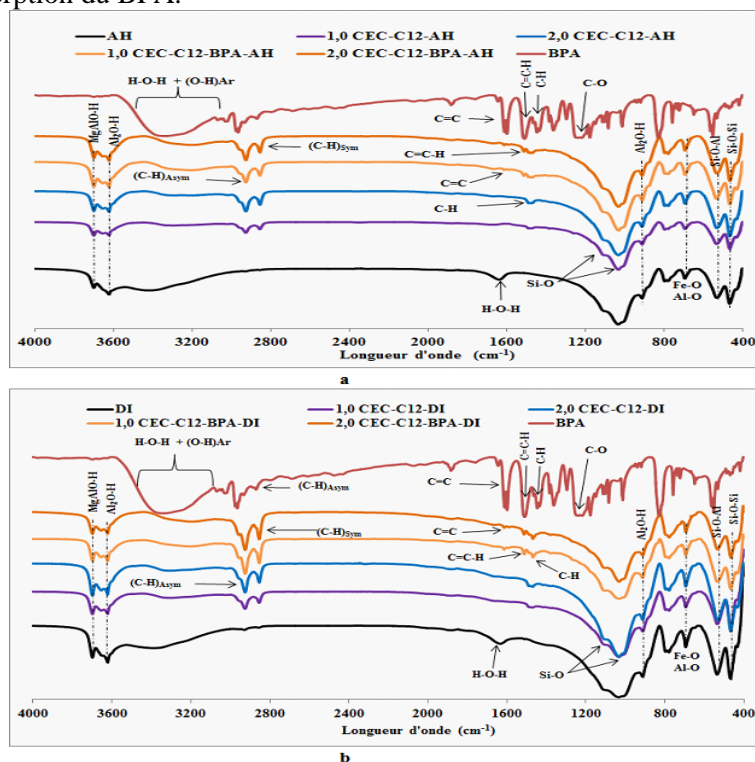


Figure 8 : Spectres infrarouges. a : AH, BPA pur, C₁₂-AH avant et après adsorption et b : DI BPA pur, C₁₂-DI avant et après adsorption du BPA

Le **tableau 1** résume les longueurs d'onde des vibrations asymétriques et symétriques des groupes CH₂ avant et après adsorption du BPA. Les spectres des organo-argiles après adsorption montrent l'apparition de nouvelles bandes qui sont attribuées aux vibrations des groupes caractéristiques des molécules de BPA adsorbé dans l'espace inter-feuillet. Selon les travaux de *Fei et Ullah* [24,25] portant sur le spectre du BPA pur, la majeure partie des groupes hydroxyles (OH) forment des ponts hydrogène dans le BPA pur. La bande d'absorption à 3350 cm⁻¹ est attribuée aux groupes hydroxyles des ponts hydrogène, le doublet à 3077 et 3038 cm⁻¹ est dû aux modes d'élongation des CH aromatiques [25]. Les vibrations caractéristiques d'élongation asymétriques et symétriques des CH₃ apparaissant respectivement à 2965 et 2871 cm⁻¹, et les bandes à 1613, 1599, 1518, 1179 et 824 cm⁻¹ sont attribuées au système aromatique *para*-substitué. La structure de l'isopropyle est associée à la bande à 1363 cm⁻¹ [24]. Les spectres des BPA-organo-argiles montrent la présence des groupes caractéristiques des chaînes alkyls des surfactants (C₁₂, C₁₄, C₁₆ et 2C₁₂), ce qui indique que l'adsorption du BPA n'occasionne pas la désorption des molécules de surfactants. En effet, les vibrations asymétriques et symétriques des groupes méthyle et méthylène des surfactants se maintiennent, mais on observe un faible déplacement de ces bandes sur les spectres des BPA-organo-argiles, indiquant une interaction entre les molécules de surfactants et celles du BPA. Les bandes à 1613 et 1600 cm⁻¹ observées uniquement sur les spectres des BPA-organo-argiles et du BPA pur sont attribuées aux cycles benzéniques. Celles autour de 1518 cm⁻¹ sont attribuées aux liaisons CH aromatiques. On observe également un élargissement de la bande autour de 3350 cm⁻¹ sur les spectres des BPA-argiles et des BPA-organo-argiles vers les faibles longueurs d'onde, ce qui s'expliquerait par la contribution des hydroxyles aromatiques du BPA engagé dans des ponts hydrogènes. L'on note aussi la quasi-disparition de la bande autour de 1600 cm⁻¹ due au déplacement des molécules d'eau. La bande caractéristique observée 3655 cm⁻¹ sur les spectres des organo-smectites est toujours présente sur les spectres des BPA-organo-argiles, indiquant qu'après adsorption, le caractère hydrophobe des organo-argiles est maintenu. L'apparition des nouvelles bandes sur les spectres des BPA-argiles et des BPA-organo-argiles indiquent bien l'adsorption des molécules de BPA.

Le **tableau 1** indique une variation des longueurs d'onde de vibrations asymétriques et symétriques des groupes méthyle et méthylène des surfactants, ce qui suggérerait un réarrangement des chaînes alkyls des surfactants. Ce réarrangement pourrait s'expliquer par des interactions entre les molécules de BPA et celles du surfactant déjà intercalées dans l'entre-couche de la Ca-montmorillonite.

Tableau. 1 : Variation des longueurs d'onde des vibrations asymétriques et symétriques des groupes CH₂ avant et après adsorption du BPA

Argile AH									
Niveaux de chargement	Surfactants Vibrations	C ₁₂		C ₁₄		C ₁₆		2C ₁₂	
		CH ₂ Asym	CH ₂ Sym	CH ₂ Asym	CH ₂ Sym	CH ₂ Asym	CH ₂ Sym	CH ₂ Asym	CH ₂ Sym
1,0-CEC	Avant adsorption	2926	2854	2923	2852	2921	2851	2924	2854
2,0-CEC		2925	2854	2921	2851	2920	2850	2921	2853
1,0-CEC	Après adsorption	2926	2855	2925	2854	2923	2852	2925	2854
2,0-CEC		2926	2855	2924	2853	2920	2851	2925	2854
Argile DI									
Niveau de chargement	Surfactants Vibrations	C ₁₂		C ₁₄		C ₁₆		2C ₁₂	
		CH ₂ Asym	CH ₂ Sym	CH ₂ Asym	CH ₂ Sym	CH ₂ Asym	CH ₂ Sym	CH ₂ Asym	CH ₂ Sym
1,0-CEC	Avant adsorption	2926	2855	2924	2853	2922	2851	2925	2855
2,0-CEC		2924	2854	2922	2852	2920	2851	2924	2854
1,0-CEC	Après adsorption	2925	2854	2926	2854	2921	2852	2926	2855
2,0-CEC		2925	2854	2925	2854	2921	2851	2926	2855
Surfactants purs									
Vibrations des surfactants purs		C ₁₂		C ₁₄		C ₁₆		2C ₁₂	
		CH ₂ Asym	CH ₂ Sym	CH ₂ Asym	CH ₂ Sym	CH ₂ Asym	CH ₂ Sym	CH ₂ Asym	CH ₂ Sym
		2918	2850	2918	2849	2919	2849	2921	2853

3.3. MEB et analyse semi-quantitative par énergie dispersive des rayons X

La MEB associée à la microanalyse EDAX fournit des informations sur la morphologie texturale et la composition chimique superficielle des organo-argiles avant et après adsorption. Les **figures 9.a à 9.f** représentent les images MEB et EDAX de l'argile AH, de la 1,0 CEC-C₁₂-AH avant et après adsorption. Les images MEB (**Figures 9.a, 9.c et 9.e**) montrent une différence nette dans les morphologies de surface des BPA-organo-smectites en comparaison avec celles des argiles brutes. Cependant, après adsorption les organo-smectites conservent leur structure cotonnée ou pelucheuse [26].

Les **figures 9.b, 9.d et 9.f** représentent les spectres de dispersion en énergie de l'argile AH, et de l'organo-argile 1.0 CEC-C₁₂-AH avant et après adsorption du BPA. Les spectres de dispersion d'énergies de l'organo-argile 1,0 CEC-C₁₂-AH obtenus par balayage surfacique indiquent des taux élevés en carbone (76,84%) avant adsorption, (79,13%) après adsorption comparativement à l'argile brute (AH : 38,69%). Cette augmentation du taux de carbone pourrait s'expliquer à la fois par la présence des molécules de surfactant et de BPA dans les organo-argiles.

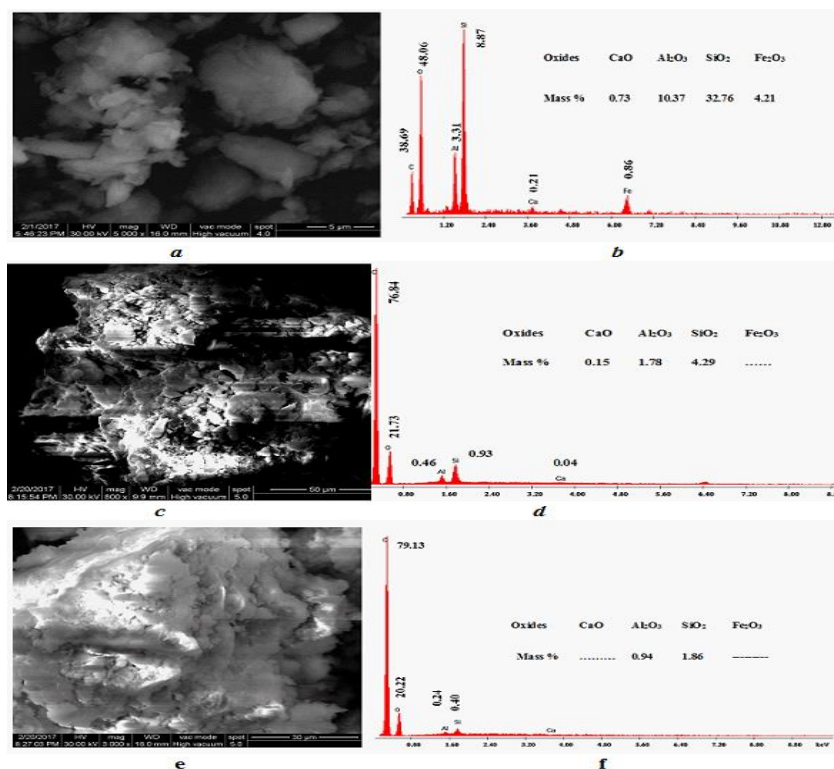


Figure 9 : (a) Image MEB ($G=5000\times$) et (b) EDAX de l'argile AH ; (c) Image MEB ($G= 800\times$) et (d) EDAX de la 1,0 CEC-C₁₂-AH; (e) Image MEB ($G=3000\times$) et (f) EDAX de la 1,0 CEC-C₁₂-BPA-AH.

4. Conclusion

La DRX indique une augmentation de la distance basale d_{001} des organo-argiles après adsorption du BPA, montrant ainsi que les molécules de BPA pénètrent dans l'espace inter-feuillet des organo-argiles. Les spectres infrarouges des organo-argiles après adsorption du BPA montrent la présence des bandes caractéristiques des groupes phényles du BPA, confirmant l'adsorption du BPA. Les molécules neutres de BPA et leurs formes mono-ionisées sont principalement insérées dans la Ca-montmorillonite modifiée par surfactants. Une petite partie de molécules neutres de BPA et leurs formes mono-ionisées sont retenues à la surface de la Ca-montmorillonite, la kaolinite, et les autres minéraux non argileux. Les images MEB indiquent que les organo-argiles avant et après du BPA ont une structure pelucheuse ou cotonneuse. Les spectres EDAX ont montré une augmentation du taux de carbone suite à l'intercalation des surfactants et l'adsorption du BPA. Pour évaluer entièrement les implications pratiques des résultats décrits, le devenir des organo-argiles chargées de BPA sera l'objet d'une étude dans nos travaux à venir.

Bibliographie

- [1] Muhamad, M.S.; Salim, M.R.; Lau, W.J.; Yusop, Z. A review on bisphenol A occurrences, health effects and treatment process via membrane technology for drinking water. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* **2016**, *23*, 1159–1567. [2] Sharma, J.; Mishra, I.M.; Kumar, V. Degradation and mineralization of Bisphenol A (BPA) in aqueous solution using advanced oxidation processes: UV/H₂O₂ and UV/S₂O₈⁽²⁻⁾ oxidation systems. *J. Environ. Manag.* **2015**, *156*, 266–275.
- [3] Yüksel, S.; Kabay, N.; Yüksel, M. Removal of bisphenol A (BPA) from water by various nanofiltration (NF) and reverse osmosis (RO) membranes. *J. Hazard. Mater.* **2013**, *263*, 307–310.
- [4] Bakr, A.R.; Rahaman, M.S. Removal of bisphenol A by electrochemical carbon-nanotube filter: Influential factors and degradation pathway. *Chemosphere* **2017**, *185*, 879–887.
- [5] Garikoé, I.; Sorgho, B.; Yaméogo, A.; Guel, B.; Andala, D. Removal of bisphenol A by adsorption on organically modified clays from Burkina Faso. *Bioremediation J.* **2021**, *25*, 22–47.
- [6] Park, Y.; Sun, Z.; Ayoko, G.A.; Frost, R.L. Bisphenol A sorption by organo-montmorillonite: Implications for the removal of organic contaminants from water. *Chemosphere* **2014**, *107*, 249–256.
- [7] Dong, Y.; Wu, D.; Chen, X.; Lin, Y. Adsorption of bisphenol A from water by surfactant-modified zeolite. *J. Colloid Interface Sci.* **2010**, *348*, 585–390.

- [8] Xu, J.; Wang, L.; Zhu, Y. Decontamination of bisphenol A from aqueous solution by graphene adsorption. *Langmuir ACS J. Surf. Colloids* 2012, 28, 8418–8425.
- [9] Rathnayake, S.I.; Xi, Y.; Frost, R.L.; Ayoko, G.A. Environmental applications of inorganic-organic clays for recalcitrant organic pollutants removal: Bisphenol A. *J. Colloid Interface Sci.* 2016, 470, 183–195
- [10] Zampori, L.; Stampino, P.G.; Dotelli, G.; Botta, D.; Sora, I.N.; Settic, M. Interlayer expansion of dimethyl ditallowylammonium montmorillonite as a function of 2-chloroaniline adsorption. *Appl. Clay Sci.* 2008, 41, 149–157.
- [11] Ghavami, M.; Zhao, Q.; Javadi, S.; Jangam, J.S.D.; Jasinski, J.B.; Saraei, N. Change of organobentonite interlayer microstructure induced by sorption of aromatic and petroleum hydrocarbons-A combined study of laboratory characterization and molecular dynamics simulations. *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* 2017, 520, 324–334.
- [12] Garikoé, I.; Sorgho, B.; Guel, B.; Persson, I. Solid-state synthesis and physico-chemical characterization of modified smectites using natural clays from BURKINA FASO. *Bull. Chem. Soc. Ethiop.* 2021, 35, 43–59.
- [13] Styszko, K.; Nosek, K.; Motak, M.; Bester, K. Preliminary selection of clay minerals for the removal of pharmaceuticals, bisphenol A and triclosan in acidic and neutral aqueous solutions. *Comptes Rendus. Chim.* 2015, 18, 1134–1142.
- [14] Alkaram, U.F.; Mukhlis, A.A.; Al-Dujaili, A.H. The removal of phenol from aqueous solutions by adsorption using surfactant-modified bentonite and kaolinite. *J. Hazard. Mater.* 2009, 169, 324–332.
- [15] Li, F.B.; Li, X.Z.; Li, X.M.; Liu, T.X.; Dong, J. Heterogeneous photodegradation of bisphenol A with iron oxides and oxalate in aqueous solution. *J. Colloid Interface Sci.* 2007, 311, 481–490.
- [16] Kaplan, R.; Erjavec, B.; Dražić, G.; Grdadolnik, J.; Pintar, A. Simple synthesis of anatase/rutile/brookite TiO₂ nanocomposite with superior mineralization potential for photocatalytic degradation of water pollutants. *Appl. Catal. B Environ.* 2016, 181, 465–474.
- [17] Zhang, L.; Zhang, B.; Wu, T.; Sun, D.; Li, Y. Adsorption behavior and mechanism of chlorophenols onto organoclays in aqueous solution. *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.* 2015, 484, 118–129.
- [18] Liu, C.; Wu, P.; Zhu, Y.; Tran, L. Simultaneous adsorption of Cd²⁺ and BPA on amphoteric surfactant activated montmorillonite. *Chemosphere* 2016, 144, 1026–1032.
- [19] Kamitori, S.; Sumimoto, Y.; Vongbupnimit, K.; Noguchi, K.; Okuyama, K. Molecular and Crystal Structures of dodecyltrimethylammonium Bromide and its Complex with p-Phenylphenol. *Mol. Cryst. Liq. Cryst. Sci. Technology. Sect. A. Mol. Cryst. Liq. Cryst.* 1997, 300, 31–43.
- [20] Elgubbi, H.M.; Othman, S.S.; Harun, F.W. Modification of kaolinite clay using benzyltriethylammonium chloride as a surfactant: Preparation and characterization. *Int. J. Eng. Technol.* 2020, 9, 850–856.
- [21] Churaev, N.V.; Sergeeva, I.P.; Sobolev, V.D.; Jacobasch, H. Modification of quartz surfaces using cationic surfactant solutions. *Colloids Surf. A Physicochem. Eng.* 2000, 164, 121–129.
- [22] Ding, C.; Shang, C. Mechanisms controlling adsorption of natural organic matter on surfactant-modified iron oxide-coated sand. *Water Res.* 2010, 44, 3651–3658.
- [23] Ding, C.; Shang, C. Mechanisms controlling adsorption of natural organic matter on surfactant-modified iron oxide-coated sand. *Water Res.* 2010, 44, 3651–3658.
- [24] Fei, B.; Chen, C.; Peng, S.; Zhao, X.; Wang, X.; Dong, L. FTIR study of poly (propylene carbonate)/ bisphenol A blends. *Polym. Int.* 2004, 53, 2092–2098.
- [25] Ullah, R.; Ahmad, I.; Zheng, Y. Fourier Transform Infrared Spectroscopy of (Bisphenol A). *J. Spectrosc.* 2016, 2016, 2073613
- [26] Caglar, B.; Topcu, C.; Coldur, F.; Sarp, G.; Caglar, S.; Tabak, A.; Sahin, E. Structural, thermal, morphological and surface charge properties of dodecyltrimethylammonium-smectite composites.

Groupe thématique 2 : ReSBOA
Réseau des Substances Biologiquement Actives

Efficacité bactéricide des extraits de *Terminalia ivorensis* A. Chev. (Combretaceae) pour contrôler les bactéries pathogènes et d'altération d'origine alimentaire

Pégnonsienrè Lacina SORO^{1*}, Ousmane COULIBALY¹, Kamou Richard KAMOU¹, Kahafénéchon Martial TOURE² et Karamoko OUATTARA¹

¹ UFR-Agriculture, Ressources Halieutiques et Agro-Industries ; Université de San-Pedro (San-Pédro, Côte d'Ivoire)

² UFR Biosciences, Université Félix Houphouët Boigny (Abidjan, Côte d'Ivoire)

* Courriel de l'auteur correspondant : lacina.soro@usp.edu.ci

Résumé : L'application des extraits de plantes pour le contrôle bactéries pathogènes et d'altération d'origine alimentaire reçoivent une grande attention aujourd'hui due au fait des effets néfastes sur la santé et de la résistance développée par les bactéries contre les produits de synthèses. Cette étude a été entreprise pour étudier les propriétés antibactériennes de divers extraits de l'écorce de tige de *T. ivorensis* sur la croissance de trois souches de bactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (*Acinetobacter* sp. IPMQ/C3GR, *Escherichia coli* KGTNE/RCFQ et *Klebsiella pneumoniae* ATCC/1833). L'activité antibactérienne des extraits hydro-alcooliques (EBeth), aqueux (Faq) et hexanique (Fhex) a été évaluée à l'aide de la méthode de diffusion sur disque d'agar et de la méthode de microdilution en milieu liquide. Les extraits de la fraction aqueuse (Faq) et hydro-alcoolique (EBeth) ont montré une activité significative ($p \leq 0,05$) contre toutes les souches bactériennes sauf la fraction hexanique (Fhex). Faq et EBeth présentaient la concentration minimale d'inhibition la plus faible (12,50 mg/ml), tandis que la concentration bactéricide minimale variait entre 12,50 et 25 mg/mL respectivement. Ainsi, les extraits Faq et EBeth de *T. ivorensis* ont montré un pouvoir bactéricide contre toutes les souches bactériennes testées. Leur capacité à être utilisés dans l'industrie alimentaire constitue un domaine de recherche intéressant.

Mots clés : *Terminalia ivorensis* ; bactéries pathogènes ; bactéries d'altération d'origine alimentaire ; Bêta-lactamases

Bactericidal efficacy of extracts of *Terminalia ivorensis* A. Chev. (Combretaceae) to control pathogenic and foodborne spoilage bacteria

Abstract

The application of plant extracts for the control of pathogenic and spoilage bacteria of food origin receive great attention today due to the adverse effects on health and the resistance developed by bacteria against synthetic products. This study was undertaken to investigate the antibacterial properties of various extracts from the stem bark of *T. ivorensis* on three extended-spectrum β -lactamases-producing bacteria strains growth (*Acinetobacter* sp. IPMQ/C3GR, *Escherichia coli* KGTNE/RCFQ, and *Klebsiella pneumoniae* ATCC/1833). Antibacterial activity of hydro-alcoholic (EBeth), aqueous (Faq), and hexane (Fhex) extracts was assessed using agar disc-diffusion method and liquid medium micro dilution method. Aqueous fraction (Faq) and hydro-alcoholic (EBeth) extracts showed significant activity ($p \leq 0.05$) against all bacteria strains except hexane fraction (Fhex). Faq and EBeth exhibited the lowest Minimum Inhibition Concentration (12.50 mg/ml), while Minimum Bactericidal Concentration ranged between 12.50 to 25 mg/mL respectively. Therefore, Faq and EBeth extracts of *T. ivorensis* showed a bactericidal power against all bacterial strains tested. Their ability to be used in the food industry is an interesting area of research.

Keywords: *Terminalia ivorensis*; pathogenic bacteria; foodborne spoilage bacteria; Beta-lactamases

1. Introduction

Les maladies d'origine alimentaire sont généralement infectieuses ou toxiques par nature et provoquées par des bactéries, des virus, des parasites ou des substances chimiques qui pénètrent dans l'organisme par le biais d'aliments ou d'eau contaminée [1]. Les antimicrobiens, comme les antibiotiques, sont essentiels pour traiter les infections provoquées par des bactéries. Cependant, leur utilisation abusive ou excessive dans la médecine vétérinaire et humaine est à mettre en corrélation avec l'urgence et la propagation de bactéries résistantes, qui rendent le traitement des maladies infectieuses inefficace chez les animaux et les êtres humains. En effet, la production de β -lactamases (β LS), en particulier de carbapénémases et de carbapénémases et les β -lactamases à spectre étendu (β LSE), par certains pathogènes, constitue un mécanisme important par lequel les bactéries développent une résistance aux antibiotiques disponibles [2]. Les carbapénémases sont principalement présentes chez les fermenteurs

sans lactose tels que les espèces *Pseudomonas* et *Acinetobacter* ; et dans une moindre mesure les Enterobacteriaceae fermentant le lactose, et elles se sont répandues dans le monde entier [3]. Les β LSE et les carbapénémases sont principalement produites par les Enterobacteriaceae et *Pseudomonas*, respectivement, et confèrent à ces bactéries pathogènes la capacité exceptionnelle d'avoir un large profil de substrat en termes de nombre et de classes d'antibiotiques auxquels elles sont résistantes. Les micro-organismes pathogènes produisant des BLSE et des carbapénémases ont des conséquences cliniques graves car ils sont généralement associés à des taux élevés de morbidité et de mortalité, à une durée d'hospitalisation accrue et à des coûts de traitement élevés [2, 4]. C'est pourquoi l'utilisation des extraits de plantes pour le contrôle bactéries pathogènes et d'altération d'origine alimentaire reçoit une grande attention aujourd'hui due au fait des effets néfastes sur la santé et de la résistance développée par les bactéries contre les produits de synthèses.

Les plantes ont de tout temps joué un rôle majeur dans la vie des populations des différentes régions d'Afrique subsaharienne, tant sur le plan alimentaire que thérapeutique [5, 6]. Le pouvoir de guérison des plantes provient des effets de leurs métabolites secondaires, notamment les phénols, les alcaloïdes, les terpénoïdes et polypeptides. Ces métabolites interviendraient dans la défense de la plante contre les parasites pathogènes. Parmi les nombreuses familles utilisées pour leurs propriétés thérapeutiques, on peut citer la famille des Combretaceae, dont plusieurs taxons sont largement utilisés pour le traitement de diverses maladies [7]. Le genre *Terminalia* est le deuxième plus grand genre des Combretaceae après *Combretum*, avec environ 200 espèces. Ces plantes sont distribuées dans les régions tropicales du monde avec la plus grande diversité génétique en Asie du Sud-Est [8]. Les espèces de *Terminalia* vont des arbustes aux grands arbres forestiers à feuilles caduques. La plupart du temps, ce sont de très grands arbres atteignant jusqu'à 75 m de haut [7]. Les membres du genre *Terminalia* sont largement utilisés dans la médecine traditionnelle sur plusieurs continents pour le traitement de nombreuses maladies, notamment les troubles abdominaux, les infections bactériennes, les rhumes, les maux de gorge, la conjonctivite, la diarrhée, la dysenterie, la fièvre, les troubles gastriques, etc, dysenterie, fièvre, ulcères gastriques, maux de tête, maladies cardiaques, ankylostomes, hypertension, jaunisse, lèpre, saignement de nez, œdème, pneumonie et maladies de la peau [9, 10, 11]. En Côte d'Ivoire, *Terminalia ivorensis*, se trouve dans la zone de forêt tropicale épaisse. Elle est utilisée en médecine traditionnelle pour traiter de nombreuses infections bactériennes et fongiques. [12, 13] ont montré que l'écorce de cette plante avait une activité anti-fongique contre *Candida albicans* et *Aspergillus fumigatus*. Puis, [12] ont par la suite montré que l'écorce de cette plante pouvait être utilisée pour éradiquer les infections à staphylocoques résistants à la méthicilline/oxacilline principalement causées par *Staphylococcus aureus* et par des staphylocoques coagulo-négatifs, comme *Staphylococcus epidermidis*.

Cependant, aucune étude n'a été rapportée à notre connaissance sur l'activité antibactérienne de cette plante sur la croissance des bactéries productrices de β LSE. Compte tenu des nombreux et excellents résultats anti-infectieux obtenus avec cette plante, cette étude visait à évaluer l'activité antibactérienne de divers extraits de l'écorce de la tige de *T. ivorensis* sur la croissance in vitro de trois souches de bactéries productrices de β Ls.

2. Matériaux et méthodes

2.1 Collecte et préparation du matériel végétal

L'écorce de la tige de *T. ivorensis* a été collectée au centre hospitalier Centre Hospitalier Universitaire (Cocody, Côte d'Ivoire) en février 2017 et authentifiée au Centre National de Floristique, Université Félix Houphouët Boigny, où un spécimen d'herbier est déposé sous le numéro spécimen est déposé sous le numéro 8855 depuis le 17 mai, 1966. L'écorce de la tige récoltée a été séchée à l'air pendant 14 jours et broyée avec un broyeur de laboratoire (type RETSCH AS 200). Les poudres ainsi obtenues ont été stockées dans des bouteilles scellées pour les extractions ultérieures

2.2 Souches bactériennes productrices de bêta-lactamase

Trois souches de bactéries productrices de β Ls comprenant *Acinetobacter* sp. IPMQ/C3GR, *Escherichia coli* KGTNE/RCFQ, et *Klebsiella pneumoniae* ATCC/1833 ont été obtenues auprès de la biobanque de l'IPCI (Institut Pasteur de Côte d'Ivoire). Ainsi, l'inoculum bactérien a été préparé à partir de jeunes cultures de 18 heures de chaque souche testée. Cette préparation a été réalisée en homogénéisant deux colonies bactériennes bien isolées bien isolées à l'aide d'un manche en platine dans 10 ml de bouillon Mueller-Hinton (BMH), et cette suspension a été incubée à 37°C pendant 3 heures. 37°C pendant 3

heures afin d'obtenir une pré-culture. Ensuite, 1 ml de bouillon de pré-culture a été prélevé et ajouté à 9 ml de MHB concentré deux fois, ce qui a donné la suspension 100 ayant une charge de 106 UFC/ml [14].

2.3 Préparation de l'extrait hydro-éthanolique brut de *T. ivorensis* et son fractionnement

L'extrait brut hydro-éthanolique a été préparé à partir de la poudre d'écorce de tige de *T. ivorensis* de poudre d'écorce de tige. Ainsi, cent grammes (100 g) de poudre sèche a été ajoutée dans un litre d'un mélange d'éthanol (70 ml) et d'eau (30 ml), et ensuite la suspension a été homogénéisée dans un mélangeur. Les homogénats obtenus ont d'abord été essorés dans un carré de tissu blanc, puis filtrés successivement deux fois avec du coton absorbant et une fois avec du papier filtre Whatman de 3 mm. Le filtrat obtenu a été concentré sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif Büchi à 60°C. La poudre brune obtenue, constituant notre extrait brut hydro-éthanolique, a été codifiée EBeth [15]. Après cette étape, dix grammes (10 g) d'EBeth ont été soumis à une partition liquide/liquide dans 400 ml d'un mélange n-hexane/eau (v/v, 50/50). Après décantation, ces deux phases ont été séparées et concentrées sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif Büchi à 60°C ce qui a donné deux extraits (fractions), à savoir Fhex (fraction hexane) et Faq (fraction aqueuse) [10].

2.4 Rendement d'extraction des différents extraits

Le rendement est la quantité d'extrait obtenue à partir du matériel végétal. En pratique, il est déterminé par le rapport de la masse de l'extrait sec après évaporation par rapport à la masse de la poudre de matériel végétal sec utilisée pour l'extraction, multiplié par 100 (Eq. 1).

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{m_E}{m_P} \times 100 \quad (1)$$

Avec, m_E = la masse en grammes de l'extrait sec et m_P = la masse en grammes de la poudre de l'échantillon.

2.5 Activités antibactériennes des différents extraits

2.5.1 Tests de sensibilité

La méthode de diffusion en puits d'agar, connue sous le nom de méthode de Kirby-Bauer [16], telle qu'adoptée précédemment [15], a été utilisée. L'inoculum (0,1 ml) de chaque souche de bactérie (106 UFC/ml) a été étalé sur des plaques de gélose Muller-Hinton. Des puits de 6 mm de diamètre ont été perforés dans le milieu gélosé et remplis avec 75 µl de chaque extrait de plante (200, 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,12, 1,56 et 0,78 mg/ml) et d'oxacilline en tant que contrôle positif séparément (125 ; 62,5 ; 31,25 ; 15,62 ; 7,81 ; 3,9 ; 1,95 et 0,97 mg/ml). Les plaques ont été incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures. Après incubation, les résultats ont été enregistrés en mesurant le diamètre (mm) des zones d'inhibition de la croissance. Des zones d'inhibition claires autour des disques indiquaient la présence d'une activité antibactérienne.

2.5.2 Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)

La CMI des différents extraits sur la croissance des souches bactériennes productrices de bêta-lactamases a été déterminée en utilisant la méthode décrite par [15]. Ainsi, la CMI est définie comme la plus faible concentration la plus faible de l'agent antimicrobien qui inhibe la croissance microbienne après 18 à 24 heures.

2.5.3 Détermination des concentrations bactéricides minimales bactéricide (CMB)

Pour la détermination de la CMB des différents extraits, la méthode de macro-dilution dans un milieu liquide décrite par [15] a été utilisée. Ainsi, dans des tubes d'hémolyse, 1 ml de chaque extrait de plante extraits de plantes (400, 200, 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,12 et 1,56 mg/ml) et d'oxacilline comme contrôle positif (250 ; 125 ; 62,5 ; 31,25 ; 15,62 ; 7,81 ; 3,9 et 1,95 mg/ml) ont été inoculés avec 1 ml d'un inoculum (106 UFC/ml) pendant 18 heures, ce qui a entraîné une réduction de moitié de chaque concentration. Deux autres tubes, dont l'un, sans agent antibactérien, sert de contrôle de croissance et l'autre sans germe, pour le contrôle de stérilité, ont également été préparés. Ensuite, les plaques de gélose MH coulées dans des boîtes de Pétri exemptes d'antimicrobiens ont étéensemencées en stries de 5 cm avec 0,1 ml du contenu de tous les tubes et incubées à 37°C pendant 24 heures. Les plaques de gélose MH ont été examinées pour la croissance bactérienne et la CMB a été prise comme la concentration de

l'extrait végétal qui ne présente aucune croissance bactérienne sur les plaques de gélose fraîchement inoculées.

2.5.4 Détermination du pouvoir antibactérien (PA)

Le pouvoir antibactérien (PA) de chaque extrait testé a été déterminé en fonction de la valeur du rapport MBC/MIC. Ainsi, un extrait est bactéricide si ce rapport est inférieur ou égal à 4 et bactériostatique lorsqu'il est supérieur à 4 [17].

2.6 Analyse statistique

Toutes les expériences ont été réalisées en triplicatas selon un plan complètement randomisé [18]. Les résultats ont été exprimés en tant que moyenne \pm erreur standard (SE). La signification statistique a été établie à l'aide de modèles d'analyse de la variance (ANOVA) pour évaluer l'effet des extraits de plantes sur la croissance de trois souches bactériennes productrices de bêta-lactamases. Les moyennes ont été séparées selon l'analyse des intervalles multiples de Duncan ($p \leq 0,05$), à l'aide du logiciel STATISTICA version 10 [19].

3. Résultats et discussion

3.1 Rendement d'extraction des différents extraits

L'extraction constitue l'étape initiale avant l'analyse des composants phytochimiques ou des activités biologiques des plantes médicinales. Ainsi, le choix du solvant et de la méthode d'extraction affectera le rendement et l'activité biologique des extraits de plantes [20, 21]. Pour la présente étude, les rendements d'extraction de l'écorce de la tige de *T. ivorensis* par différents solvants d'extraction sont présentés dans la Fig.1. Parmi les solvants d'extraction, la fraction aqueuse (Faq) a donné le rendement maximal, suivie de la fraction hexanique (Fhex). La capacité d'extraction des différents solvants utilisés a suivi l'ordre suivant : aqueux > hexane > aqueux-éthanol. Les différences dans les rendements des extraits de l'écorce de la tige de *T. ivorensis* pourraient être attribuées à la disponibilité différente des composants extractibles, résultant de la composition chimique variée des plantes [22]. La quantité de composants bioactifs qui peut être extraite d'un matériel végétal est principalement affectée par la vigueur de la procédure d'extraction, qui peut probablement varier d'un échantillon à l'autre. Parmi les autres facteurs contributifs, l'efficacité du solvant d'extraction à dissoudre les composés endogènes peut également être très importante [20, 23]. Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés dans la littérature concernant *Terminalia arjuna* [23], *Clerodendrum splendens* [24] et *Cochlospermum planchonii* [25].

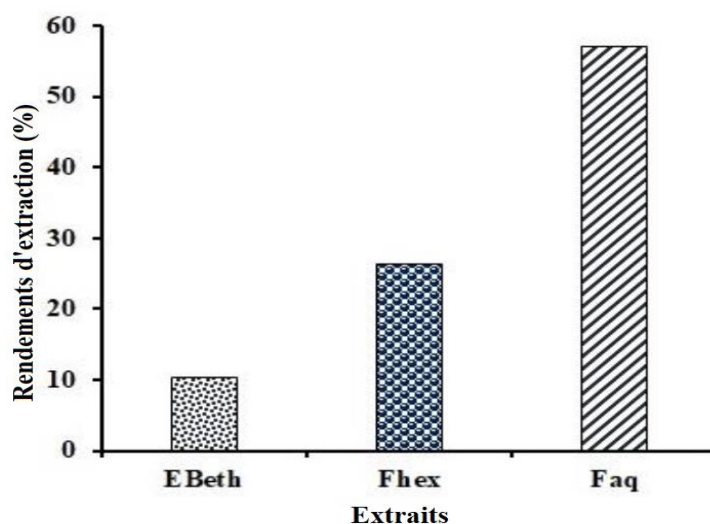


Figure 1 : Effets du solvant d'extraction sur le rendement de l'extrait (%) de l'écorce de la tige de *T. ivorensis*.

3.2 Activités antibactériennes des différents extraits

En outre, les potentiels antimicrobiens de divers extraits de l'écorce de tige de *T. ivorensis* ont été étudiés contre trois souches de bactéries productrices de β Ls. A la fin du temps d'incubation, une diminution

progressive du diamètre de la zone d'inhibition de la croissance pour chaque souche bactérienne testée a été observée lorsqu'une réduction de la concentration de 200 à 0,78 mg/mL de chaque extrait végétal (Tableau 1) et de 125 à 0,97 mg/mL d'oxacilline (Tableau 2) a été effectuée. Ainsi, pour *Acinetobacter* sp. IPMQ/C3GR, le diamètre des zones d'inhibition présentées par la fraction EBeth était compris entre 10,6 et 20,4 mm, celui obtenu avec Fhex était compris entre 8,66 et 17 mm, tandis que le diamètre des zones d'inhibition présentées par Faq était compris entre 10,67 et 21 mm. En ce qui concerne *E. coli* KGTNE/RCFQ, le diamètre des zones d'inhibition se situait entre 11 et 20,4 mm, 9,66 et 20 mm, et 10,67 et 20 mm pour EBeth, Fhex et Faq, respectivement. Quant aux diamètres des zones d'inhibition de la croissance de *K. pneumoniae* ATCC/13883, ils étaient compris entre 13 et 20,75 mm, 10 et 20,33 mm, et 10,33 et 20,67 mm pour EBeth, Fhex et Faq, respectivement (Tableau 1). Sinon, les zones d'inhibition présentées par l'oxacilline utilisée comme contrôle positif étaient comprises entre 11 et 25 mm quelle que soit la souche testée (Tableau 2). Les activités significatives ($P < 0,05$), présentées par les extraits Faq et EBeth de l'écorce de tige de *T. ivorensis*, montrent que ces solvants (eau et éthanol aqueux) ont dissous un plus grand pourcentage des composés bioactifs de cette plante que l'hexane. Ceci justifie la préférence de l'eau ou du gin local "koutoukou", obtenu à partir de la distillation du vin de palme fermenté et connu pour contenir une concentration élevée d'alcool, comme solvants d'extraction par les herboristes dans la préparation de médicaments bruts à partir de matières végétales médicinales [25, 26]. Quant aux paramètres antibactériens, à savoir les concentrations minimales inhibitrice (CMI), les concentrations minimales bactéricides (CMB) et le pouvoir antibactérien des différents extraits, les résultats sont présentés dans le tableau 3. Les CMI se situaient entre 12,50 et 25 mg/mL, quels que soient les extraits de plantes utilisés contre toutes les souches bactériennes testées (Tableau 3). De plus, Fhex et Faq ont montré la plus grande inhibition contre toutes les souches bactériennes testées avec la CMI la plus basse (12,50 mg/mL). Concernant les CMB des extraits de plantes, qui variaient de 12,50 à 125 mg/mL, les CMB les plus faibles (12,50 et 25 mg/mL) ont été obtenus avec Faq contre la croissance de *K. pneumoniae* ATCC/13883, *E. coli* KGTNE/RCFQ et *Acinetobacter* sp. IPMQ/C3GR respectivement. Par conséquent, seuls Faq et EBeth ont montré un pouvoir bactéricide contre toutes les souches bactériennes testées, car leur rapport CMB/CMI est inférieur ou égal à 4, selon la souche (Tableau 3). Ces observations sont accord avec celles de [25, 26, 27] qui ont rapporté respectivement que l'extrait éthanolique d'*Aspila africana*, *Cyathula prostrata* et *Cochlospermum planchonii* présentait les activités les plus élevées, suivies par celles des extraits aqueux contre la croissance de *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* et *E. coli*. Alors que les travaux de [28] ont montré que les extraits aqueux chauds de la racine, de l'écorce de la tige et de la feuille de *Parkia clappertoniana* étaient plus actifs que leurs extraits à l'éthanol et à l'eau froide contre *E. coli* ATCC 11775, *P. aeruginosa* ATCC10145 et *S. aureus* ATCC 12600. Par ailleurs, l'incapacité de certains extraits à exercer un effet antibactérien sur les organismes testés ne suffit pas à conclure à une absence de propriété antimicrobienne, car le pouvoir des extraits dépend de l'espèce et de l'âge de la plante au moment de la récolte, du solvant et de la méthode d'extraction utilisés, ainsi que de la quantité de composé actif, qui peut varier en qualité et en quantité d'une saison à l'autre [21, 29, 30]. Par conséquent, la variabilité constatée dans cette étude et celles rapportées précédemment pourrait être attribuée à certaines des raisons mentionnées ci-dessus.

Tableau 1 : Diamètre des zones d'inhibition de la croissance des souches bactériennes testées par les différents extraits de l'écorce de la tige de *T. ivorensis*.

Extraits	Concentrations des extraits (mg/mL)								
	200	100	50	25	12,5	6,25	3,12	1,56	0,78
<i>Acinetobacter</i> sp. IPMQ/C ₃ GR									
EBeth	20,40 ± 1,00 ^h	16,40 ± 1,67 ^{efg}	13,20 ± 0,80 ^{bcd}	10,60 ± 1,34 ^a	-	-	-	-	-
Fhex	17 ± 2,00 ^{fg}	15 ± 0,57 ^{cde}	12,67 ± 0,57 ^b	10,33 ± 0,57 ^a	8,66 ± 0,57 ^a	-	-	-	-
Faq	21 ± 2,07 ^h	18,33 ± 0,57 ^g	15,00 ± 1,00 ^{cef}	13,00 ± 1,00 ^{bd}	10,67 ± 0,57 ^a	-	-	-	-
<i>E. coli</i> KGTNE/RCFQ									
EBeth	20,40 ± 1,67 ^e	16,60 ± 2,60 ^d	13,40 ± 1,67 ^{bc}	11,00 ± 1,87 ^a	-	-	-	-	-
Fhex	20 ± 1,00 ^e	17 ± 1,00 ^d	13,66 ± 2,00 ^{bc}	11,67 ± 1,15 ^{ab}	9,66 ± 0,57 ^a	-	-	-	-
Faq	20 ± 1,00 ^e	16,67 ± 0,57 ^d	14,00 ± 1,00 ^c	11,00 ± 0,00 ^a	10,67 ± 0,57 ^a	-	-	-	-

<i>K. pneumoniae</i> ATCC/13883								
EBeth	20,75±0,95 ^g	18,50±0,57 ^{fg}	16,00±2,16 ^{de}	13,00±1,41 ^{bc}	-	-	-	-
Fhex	20,33±1,52 ^g	17,33±1,52 ^{ef}	14,33±0,57 ^{cd}	10,33±0,57 ^a	10,00±0,00 ^a	-	-	-
Faq	20,67±0,57 ^g	18,67±0,57 ^{fg}	14,00±1,00 ^{cd}	11,67±1,55 ^{ab}	10,33±1,52 ^a	-	-	-

EBeth: Extrait Brut ethanologique; Fhex: Fraction hexanique; Faq: Fraction aqueuse

Tableau 2 : Diamètre des zones d'inhibition de la croissance des souches bactériennes testées par l'oxacilline.

Souches	Concentrations Oxacilline (mg/mL)							
	125	62,50	31,25	15,62	7,81	3,90	1,95	0,97
<i>Acinetobacter sp.</i> , IPMQ/C ₃ GR	20±0,01 ^h	17±0,05 ^f	14±0,00 ^d	11±0,00 ^a	-	-	-	-
<i>E. coli</i> KGTNE/RCFQ	23±0,00 ^j	18±0,96 ^g	15±0,00 ^e	12±0,00 ^b	-	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i> ATCC/13883	25±0,01 ^k	21±0,00 ⁱ	17±0,00 ^f	13±0,00 ^c	-	-	-	-

Tableau 3 : Paramètres antibactériens des différents extraits de l'écorce de la tige de *T. ivorensis* sur la croissance des souches bactériennes testées.

Souches	Agents antibactérien	CMI (mg/mL)	CMB (mg/mL)	PA	Effet antibactérien
<i>Acinetobacter sp.</i> , (IPMQ/C ₃ GR)	EBeth	25±0,00	100±0,00	2	Bactéricide
	Fhex	12,50±0,00	100±0,00	8	Bactériostatique
	Faq	12,50±0,00	25±0,00	4	Bactéricide
	Oxa,	15,62±0,00	125±0,00	8	Bactériostatique
<i>E. coli</i> (KGTNE/RCFQ)	EBeth	25±0,00	100±0,00	2	Bactéricide
	Fhex	12,50±0,00	-	-	-
	Faq	12,50±0,00	25±0,00	4	Bactéricide
	Oxa,	15,62±0,00	125±0,00	8	Bactériostatique
<i>K. pneumoniae</i> (ATCC/13883)	EBeth	25±0,00	100±0,00	1	Bactéricide
	Fhex	12,50±0,00	100±0,00	8	Bactériostatique
	Faq	12,50±0,00	12,50±0,00	4	Bactéricide
	Oxa,	15,62±0,00	-	-	-

CMI: Concentration Minimale Inhibitrice; CMB: Concentration Minimale Bactéricide; PA: Pouvoir Antibactérien; EBeth: Extrait Brut ethanologique; Fhex: Fraction hexanique; Faq: Fraction aqueuse; Oxa.: Oxacilline

4. Conclusion

Ce travail nous a permis de mettre en évidence les propriétés antibactériennes de différents extraits de l'écorce de la tige de *T. ivorensis* sur *Acinetobacter sp.*, IPMQ/C₃GR, *E. coli* KGTNE/RCFQ et *K. pneumoniae* ATCC/13883, trois souches bactériennes productrices de βLs impliquées dans un grand nombre de maladies infectieuses. Les extraits hydroalcooliques (EBeth) et aqueux (Faq) ont montré des pouvoirs bactéricides contre la croissance de toutes les souches bactériennes testées par rapport à la fraction hexanique. Comme cela a été prouvé *in vitro*, les extraits d'écorce de tige de cette plante peuvent être une alternative naturelle prometteuse contre la croissance des bactéries productrices de βLs. Les extraits de plantes qui se sont avérés potentiellement efficaces peuvent être utilisés comme des alternatives aux agents antimicrobiens chimiques, pour contrôler les maladies d'origine alimentaire.

5. Bibliographies

[1] Sapkota R., Dasgupta R., Nancy, D.S. Rawat Antibacterial effects of plants extracts on human microbial pathogens & microbial limit tests. Int. J. Res Pharm. Chem. (2012), 2 (4) , pp. 926-936

- [2] Jacoby GA, Munoz-Price LS. The new β -lactamases. *New England Journal of Medicine*. 2005; 352(4):380-391.
- [3] Chika E, Malachy U, Ifeanyichukwu I, Thaddeus G, Carissa D, Peter E, Charles E. Detection and antimicrobial susceptibility of some gram negative bacteria producing carbapenemases and extended spectrum β -Lactamases. *International Journal of Microbiology and Immunology Research*. 2013; 2(6):064-069.
- [4] Horváth G, Bencsik T, Ács K, Kocsis B. Sensitivity of ESBL-Producing Gram-Negative Bacteria to essential Oils, Plant Extracts, and Their Isolated Compounds. In: *Antibiotic Resistance*, (Eds.) K. Kon, M. Rai, Academic Press. London, UK, 2016, 269.
- [5] Ouattara K., Ouattara A., Kamagate T., Martial T.K., Soro P, L, & Issa B, (2019), In-vitro antibacterial activity of various extracts from *Terminalia ivorensis* A, Chev, (Combretaceae) stem bark against some Beta-Lactamase-producing bacteria strains, *European Journal of Biotechnology and Bioscience*, 7(3): 18-23.
- [6] Mostafa AA, Al-Askar AA, Almaary KS, Dawoud TM, Sholkamy EN, Bakri MM. Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial strains causing food poisoning diseases. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2018; 25(2):361-366.
- [7] Stace CA. Combretaceae. In: *The Families and Genera of Vascular Plants*, (Ed.) K. Kubitzki, Vol. IX, Springer-Verlag. Berlin, Germany, 2007, 82.
- [8] Fahmy NM, Al-Sayed E, Singab AN. Genus *Terminalia*: A phytochemical and biological review. *Medicinal & Aromatic Plants*. 2015, 4(5):218.
- [9] Agbedahunsi JM, Anao I, Adewunmi CO, Croft SL. Trypanocidal properties of *Terminalia ivorensis* A. Chev.(Combretaceae). *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*. 2006; 3(2):51-56.
- [10] Mathieu KAK, Siaka S, Marcel AG, Kassi ABB, Ouattara S, Aw S, *et al.* Antifungal activity of *Terminalia superba* (Combretaceae). *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, 2015, 3(2):162-173.
- [11] Silva O, Serrano R. *Terminalia* genus as source of antimicrobial agents. In: *The battle against microbial pathogens: basic science, technological advances and educational programs* (Ed.) A. Méndez-Vilas, Vol. 1, Formatex Research Center. Badajoz, Spain, 2015, 245.
- [12] Coulibaly K, Zirihi GN, Guessennnd-Kouadio N, Oussou KR, Dosso M. Antibacterial properties studies of trunk barks of *Terminalia ivorensis* (Combretaceae), a commercial and medicinal specie, on some methicillin-resistant Staphylococci spp strains. *African health sciences*. 2014; 14(3):753-756.
- [13] Sitapha O., Elisee K,K, & Joseph D,A, Antifungal activities of *Terminalia ivorensis* A, Chev, bark extracts against *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus*, *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, (2013) 2(1):49-52.
- [14] Ouattara A, Ouattara K, Coulibaly A, Adima AA. Phytochemical screening and evaluation of the antibacterial activity of bark extracts of *Pericopsis* (Afroformosia) *laxiflora* (Benth.) of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* ESBL *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 2013a; 5(1):86-90.
- [15] Ouattara K, Traoré Z, Doumbia I, Coulibaly AF, Coulibaly A. *In vitro* antibacterial activity of ethanol extracts of *Abrus precatorius* Linn (Fabaceae) on bacteria responsible for nosocomial infections. *International Research Journal of Pharmaceutical and Applied Sciences*. 2013b; 3(1):23-27.
- [16] Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American journal of clinical pathology*. 1966, 45(4):493-496.
- [17] Berche P, Gaillard JL, Simonet M. *Bactériologie: Les bactéries des infections humaines*. Paris, France, Flammarion: Médecine et Sciences, 1991.
- [18] Maxwell SE. Completely Randomized Design. In: *Encyclopedia of Statistics in Behavioral Science*, (Eds.) B.S. Everitt, D.C. Howell, Vol. 1, John Wiley & Sons. Chichester, 2005, 341.
- [19] Stat Soft I. Statistica (Data analysis software system). Version 10 ed. Tulsa, OK (USA), 2011.

Etude comparative de l'activité antioxydante des extraits hydroethanoliques de feuilles de *lippia multiflora* avant et après extraction de l'huile essentielle

Sibiri Ferdinand SANOU^{1*}, Yaya SORO², Sorho SIAKA².

¹ Institut National Polytechnique Félix HOUPHOUET-BOIGNY (INPHB), Laboratoire des Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles (LAPISEN), BP 1093 Yamoussoukro, cote d'ivoire

Sibiri.sanou@inphb.ci

Résumé

Lippia multiflora est une plante aromatique utilisée aussi bien pour ses extraits volatils, que non volatils, tous deux riches en molécules bioactives. L'objectif de cette étude était de comparer les compositions phytochimiques ainsi que l'activité antioxydante des extraits hydroéthanoliques des feuilles de *L multiflora* avant et après extraction de l'huile essentielle. Les extraits hydroéthanoliques ont été obtenus par macération des feuilles séchées dans un mélange éthanol/eau (70/30: v/v). Les dosages en polyphénols et en flavonoïdes totaux ont été déterminée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu [1] et par la méthode du trichlorure d'aluminium [2] respectivement. L'activité antioxydante a été évaluée par la méthode du DPPH [3]. Les teneurs en flavonoïdes étaient plus importantes après extraction de l'huile essentielle ($415,48 \pm 20,49 - 680,77 \pm 54,97$ mg EQ/g d'extraits). En revanche la teneur en polyphénols totaux obtenus diminuait avec l'extraction, ($100,67 \pm 3,93 - 98 \pm 1,73$ mgEAG/g d'extraits). L'activité antioxydante était relativement importante dans les extraits après extraction de l'huile essentielle ($IC_{50} = 258,10 \pm 1,36$ µg/mL). Les extraits de ces résidus sont riches en flavonoïdes et constituent une source potentielle de molécules bioactives. L'élucidation des molécules responsables des activités biologiques augmenterait l'intérêt pour ces résidus des feuilles.

Mots clés: *Lippia multiflora*, Huile essentielle, antioxydant, extrait hydroéthanolique.

Comparative study of the antioxidant activity of hydroethanolic extracts of *lippia multiflora* leaves before and after essential oil extraction

Abstract

Lippia multiflora is an aromatic plant used both for its volatile and non-volatile extracts, both rich in bioactive molecules. The objective of this study was to compare the phytochemical compositions as well as the antioxidant activity of the hydroethanolic extracts of the leaves of *L multiflora* before and after extraction of the essential oil. The hydroethanolic extracts were obtained by maceration of the dried leaves in an ethanol/water mixture (70/30: v/v). Polyphenol and total flavonoid assays were determined by the Folin-Ciocalteu colorimetric method [1] and by the aluminum trichloride method [2] respectively. The antioxidant activity was evaluated by the DPPH method [3]. The flavonoid contents were higher after extraction of the essential oil ($415.48 \pm 20.49 - 680.77 \pm 54.97$ mg EQ/g of extracts). On the other hand, the content of total polyphenols obtained decreased with the extraction ($100.67 \pm 3.93 - 98 \pm 1.73$ mgEAG/g of extracts). The antioxidant activity was relatively high in the extracts after extraction of the essential oil ($IC_{50} = 258.10 \pm 1.36$ µg/mL). The extracts of these residues are rich in flavonoids and constitute a potential source of bioactive molecules. Elucidating the molecules responsible for biological activities would increase interest in these leaf residues.

Keywords: *Lippia multiflora*, essential oil, antioxidant, hydroethanolic extract.

INTRODUCTION

Les plantes en général et en particulier les plantes aromatiques contiennent des métabolites secondaires responsables de leurs propriétés pharmacologiques et qui justifient leurs utilisations par la population des pays en développement sur le plan économique, alimentaire, social, environnemental et médicinal^[1]. Ainsi, *Lippia multiflora* (Moldenke) communément appelé « Thé de savane » qui est une plante aromatique de la famille des Verbénacées aux propriétés nutritionnelles et pharmaco-thérapeutiques multiples a été choisi. Les plantes aromatiques en général et en particulier *Lippia multiflora* sont utilisées non seulement pour leurs extraits volatils (huiles essentielles) mais aussi pour leurs extraits non volatils, tous les deux riches en molécules bioactives. Cependant, après l'extraction de l'huile essentielle, les résidus qui représentent plus de 98% de l'organe de la plante^[2] sont très souvent négligés. Pourtant les extraits de ces résidus ont montré de très bonnes activités biologiques^[3]. Dès lors, l'étude phytochimique de ces résidus en comparaison avec les feuilles fraîches devient nécessaire. C'est dans ce cadre que s'inscrit notre étude intitulée : « **Étude comparative de l'activité antioxydante des extraits hydroéthanoliques des feuilles de *Lippia multiflora* avant et après extraction de l'huile essentielle** ».

La présente étude vise à comparer les constituants chimiques des extraits hydroéthanoliques des feuilles de *Lippia multiflora* avant et après extraction de l'huile essentielle par :

- Identification des familles de métabolites secondaires dans les deux matrices ;
- Extraction et quantification des différents familles de métabolites secondaire ;
- Evaluation des propriétés antioxydantes.

MATERIELS ET MEHODES

2. Matériel

Les feuilles de *Lippia multiflora* ont été récoltées en Aout 2018 à Yamoussoukro (6°54'24.158'' Nord et 5°19'25.66'') au centre de la Côte d'Ivoire et identifiées par monsieur Amani N'Guessan, botaniste à l'Institut National Polytechnique Félix HOUPHOUËT-BOIGNY (INP-HB) de Yamoussoukro. Un spécimen a été déposé à l'herborium de l'INP-HB. Les feuilles ont été séchées à l'ombre à la température ambiante du laboratoire (26 à 30 °C) pendant 7 jours et réparties en 2 lots qui ont servi à la préparation des 2 échantillons.

3. Méthodes

3.1. Préparation des échantillons

Les feuilles sèches avant et après extraction de l'huile essentielle, par hydrodistillation à l'aide d'un dispositif de type Clevenger durant 3h^[4], ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique de marque IKA M20 (France) et les poudres obtenues ont été tamisées à l'aide d'un tamis de 0,5 mm de maille. Les poudres obtenues ont été conservées dans des bocaux colorées à 4 °C jusqu'à leur utilisation ultérieure.

2.2. Préparation des extraits hydroéthanoliques

Les extraits hydroalcooliques totaux ont été préparés selon la méthode décrite par Yapi Yayé et *al.*^[5]. Une masse de 100g de broyat de chaque échantillon a été macérée dans 1 L d'un mélange éthanol/eau (70/30 : v/v) sous agitateur magnétique durant 24 heures. Après décantation, le mélange a été successivement filtré sur du coton hydrophile et du papier Wattman n° 2. L'opération a été répétée trois (3) fois jusqu'à épuisement du broyat. Le filtrat obtenu a été concentré à pression réduite à la température de 40°C à l'aide d'un évaporateur rotatif de type BUCHI 461 puis lyophilisé pour donner les extraits hydroalcooliques totaux avant (EHA1) et après (EHA2) extraction de l'huile essentielle.

2.3. Criblage des familles de métabolites secondaires

La méthode de criblage utilisée est celle décrite par Harbone et basée sur des réactions de précipitation et/ou de coloration^[6].

2.4. Dosages des polyphénols et flavonoïdes totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé selon la méthode décrite par Wood *et al*^[7]. A un volume de 30µL d'extrait ont été ajoutés 2,5 mL de réactif de Folin-Ciocalteu dilué au 1/10^e. Le mélange obtenu a été maintenu pendant 2 min à l'obscurité à la température ambiante (27±03°C) puis 2 mL de carbonate de sodium (75 g.L-1) y ont été ajoutés. La solution obtenue a été ensuite incubée à 50 °C pendant 15 min. La lecture de l'absorbance a été réalisée au spectrophotomètre UV-visible à une longueur d'onde de 760 nm contre un blanc constitué de 5 mL de réactif de Folin-Ciocalteu dilué au 1/10^e et de 4 mL de carbonate de sodium (75 g.L-1). L'acide gallique a été utilisé comme standard de référence pour la quantification des teneurs en polyphénols totaux exprimées en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait).

La teneur en flavonoïdes totaux a elle été déterminée selon la méthode décrite par Marinova *et al*^[8]. Des volumes de 0,75 mL de nitrite de sodium à 5% (m/v) et de 0,75 mL de chlorure d'Aluminium à 10% (m/v) ont été ajoutés à 2,5 mL d'extrait de ratio 1/500 (m/V). Après 5 min d'incubation, le mélange a été mis en contact avec 5 mL d'une solution de soude à 1 M. Le volume obtenu a été ajusté à 25 mL puis agité vigoureusement.

L'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 510 nm. La quercétine a été utilisée comme standard de référence pour la quantification des teneurs en flavonoïdes totaux exprimées en milligramme d'équivalent de quercétine par kilogramme d'extrait (mg EQ. Kg-1 d'extrait).

2.5. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits

3.6.1. Par la méthode d'inhibition du radical cation DPPH

La méthode décrite par Benhammou *et al*, (2007) a été utilisée avec une légère modification pour la détermination du potentiel antioxydant^[9]. 50 µL de l'extrait hydroalcoolique, des fractions et de l'acide ascorbique a été ajouté à 1950 µL de la solution méthanolique de DPPH. Le mélange est bien homogénéisé et incubé à la température ambiante (25°C) dans le noir à l'abri de la lumière. Après 30 mn d'incubation, la lecture des absorbances de l'extrait, des fractions et de l'acide ascorbique est effectuée à UV 517 nm à l'aide de spectrophotomètre contre un blanc qui ne contient que la solution méthanolique de DPPH. La vitamine C (acide ascorbique) est utilisée comme étalon et son absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration, le test est répété trois (3) fois. L'activité anti-radicalaire de l'extrait, des fractions testées correspondant au pourcentage d'inhibition (PI) du radical DPPH est calculé selon l'équation suivante : $PI(\%) = \left(\frac{A_0 - A}{A_0} \right) * 100$ avec A= absorbance de l'extrait/ fractions ; A₀ = absorbance du blanc.

Le paramètre communément utilisé pour exprimer cette activité est la concentration inhibitrice à 50 % (CI₅₀ ou IC₅₀ en anglais). Certains auteurs préfèrent plutôt exprimer l'activité antioxydante en utilisant la concentration efficace à 50 % (CE₅₀ ou EC₅₀ en anglais). L'IC₅₀ a été déterminée grâce au logiciel GraphPad Prism 8.02.

3. Resultats et discussions

3.1. Rendements d'extraction

La figure 1 présente les rendements des extraits hydroalcooliques (EHA) de broyats de feuilles de *Lippia multiflora* avant et après extraction de l'huile essentielle (HE).

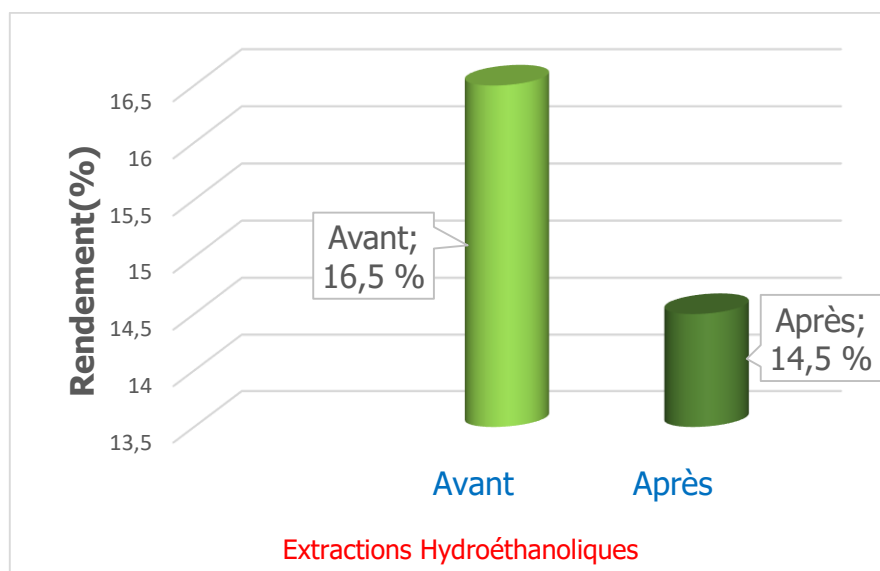


Figure 1 : Rendements des extrais

Nous remarquons qu’après extraction de l’huile essentielle, le taux de composés solubles dans le mélange éthanol-eau (70/30 : v/v) diminue de 16,5 à 14,3 % ; Ce résultat pourrait s’expliquer par le faite que l’hydrodistillation appauvri les échantillons en composés organique

3.2. Criblage phytochimique des extraits hydroéthanoliques

Les résultats des criblages phytochimiques réalisés sur les extraits hydroalcooliques avant (EHA1) et après (EHA2) extraction de l’huile essentielle sont donnés dans le **tableau 1**.

Tableau 1 : Criblage phytochimique des extraits
Extractions Hydroéthanoliques

FAMILLES DE METABOLITES SECONDAIRES	Avant extraction	Après extraction
Stérols et terpènes	+	+
Polyphénols	+	+
Flavonoïdes	+	+
Leucoanthocyanes	-	-
Tanins catéchiques	+	+
Tanins galliques	+	+
Alcaloïdes	+	+
Saponines	+	+

Les résultats du **tableau 1** montrent la présence de toutes les familles de métabolites secondaires recherchées dans les extraits hydroalcooliques avant et après extraction de l’huile essentielle à l’exception des leucoanthocyanes qui sont absents avant et après extraction de l’huile essentielle. Ces résultats avant extraction de l’huile essentielle sont en accord avec ceux de Constantin M. Dabire *et al.*, sur les extraits de feuilles de *Lippia multiflora* du Burkina Faso^[10]. Nous n’avons pas trouvé dans la

littérature d'études de criblages phytochimiques après extraction de l'huile essentielle de *Lippia multiflora* ni d'autres plantes afin de les comparer à nos résultats.

3.3. Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux

Les analyses quantitatives des polyphénols totaux, ont été effectuées à partir de la droite d'étalonnage, tracée en utilisant l'acide gallique comme standard avec un coefficient de régression de $R^2 = 0,973$ et celles des flavonoïdes totaux ont été effectuées à partir de la droite d'étalonnage, tracée en utilisant la quercétine comme standard avec un coefficient de régression de $R^2 = 0,9983$. Les résultats obtenus sont présentés dans la **figure 2**.

- Les teneurs en polyphénols totaux des extraits hydroalcooliques (E_{HA}) de feuilles de *Lippia multiflora* avant et après extraction de l'HE sont respectivement de $100,67 \pm 3,93$ et $98 \pm 1,73$ mg EAG/g d'extrait selon la figure 3. Cette baisse serait liée au caractère hydrosoluble des composés phénoliques ^[11] qui auraient été extraits en partie par l'eau florale pendant l'hydrodistillation ^[12]. Nous observons que les polyphénols sont généralement bien extraits avec un solvant polaire (éthanol, méthanol) que les solvants non / moins polaires ^[13].

- Les teneurs en flavonoïdes totaux des extraits hydroalcooliques (E_{HA}) de feuilles de *Lippia multiflora* avant et après extraction de l'HE sont respectivement de $415,48 \pm 20,49$ et $680,77 \pm 54,97$ mg EQ/kg d'extrait (figure 3). L'augmentation de la teneur en flavonoïdes dans l'extrait hydroalcoolique après extraction de l'huile essentielle pourrait s'expliquer par l'absence des huiles essentielles dont la présence inhiberait l'extraction des flavonoïdes. En effet, les composés terpéniques qui composent majoritairement les huiles essentielles sont généralement liés à certains composés phénoliques tels que les flavonoïdes en formant des complexes qui pourraient être insolubles dans le solvant d'extraction. L'élévation de la température lors de l'hydrodistillation provoquerait la destruction de ces complexes, favorisant ainsi l'extraction des flavonoïdes ^[14]^[15].

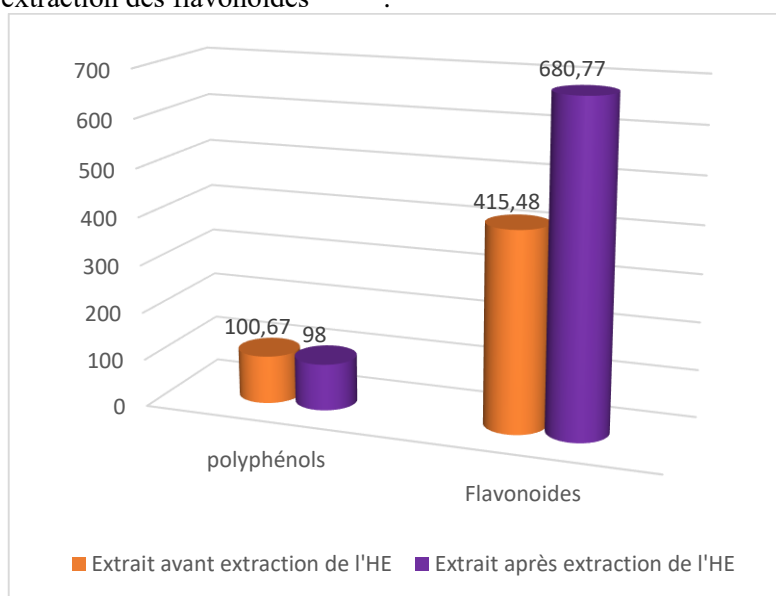


Figure 2 : Dosages des polyphenols et des flavonoïdes totaux

3.4. Activité antioxydante des extraits hydroéthanoliques par inhibition du radical DPPH

Les extraits hydroalcooliques (E_{HA}) de feuilles de *Lippia multiflora* avant et après extraction de l'HE présentent des valeurs d' IC_{50} différentes. L'extrait après extraction de l'huile essentielle a une IC_{50} ($258,102 \pm 1,360$ $\mu\text{g/mL}$) inférieure à celle d'avant extraction de l'HE ($471,765 \pm 1,411$ $\mu\text{g/mL}$), donc une forte activité antioxydante.

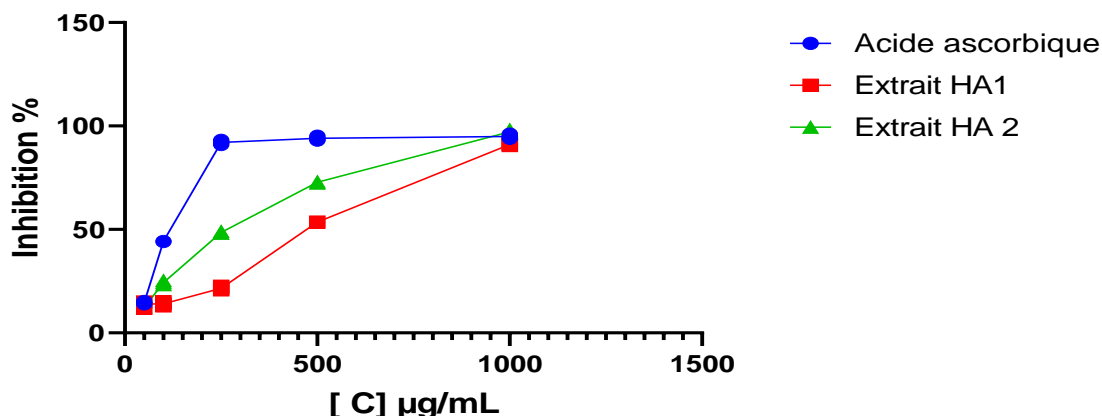


Figure 3 : courbes des % I en fonction des concentrations des extraits hydroéthanoliques

Acide ascorbique = $112,208 \pm 0,468$
 Extrait HA1 = $471,765 \pm 1,411$
 Extrait HA2 = $258,102 \pm 1,360$

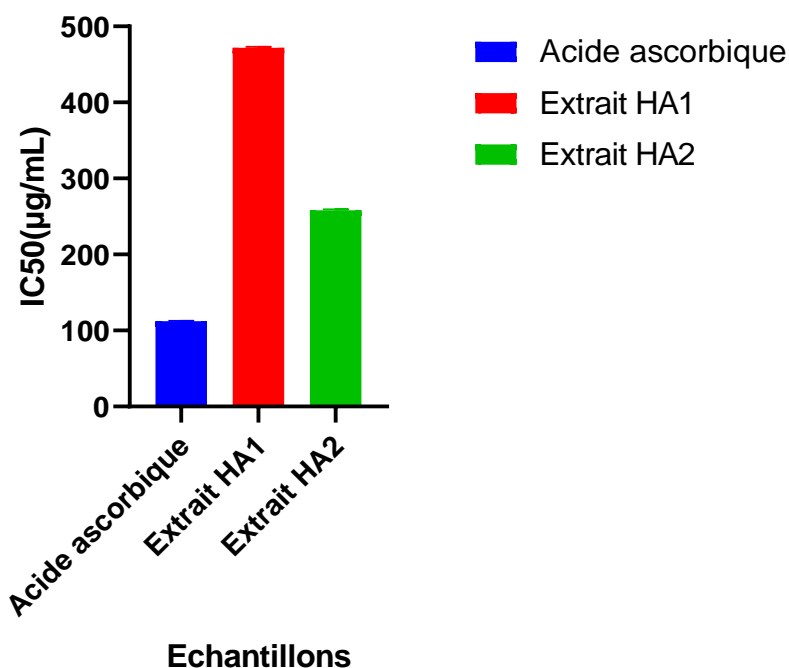


Figure 4 : Histogrammes traduisant les variations de IC50 de chaque extrait hydroéthanolique

4. Conclusion

L'étude comparative des familles de métabolites secondaires de *Lippia multiflora* avant et après extraction de l'huile essentielle a été réalisée. Le criblage phytochimique a révélé la présence d'alcaloïdes, de polyphénols, de flavonoïdes, de stérols et terpènes ainsi que de tanins dans les deux échantillons à l'exception des Leucoanthocyanes qui sont absents dans les deux échantillons. Les teneurs en flavonoïdes augmentent avec l'extraction de l'huile essentielle en dépit de la diminution de celles des polyphénols totaux dans les extraits hydroéthanoliques. L'activité antioxydante évaluée par la méthode

de réduction de radical libre DPPH montre que cette activité diminue avec l'extraction de l'huile essentielle.

Références Bibliographiques

- [1] OMS, Message du directeur régional de l'OMS pour l'Afrique à l'occasion de la première journée de la médecine traditionnelle. *Observatoire de la santé en Afrique* **2003**, (4) 1
- [2] Donahaye, E. J., Navarro, S., Bell, C., Jayas, D., Noyes, R., Phillips, T.W., **2007**. Proc. Int. Conf. Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products, Gold-Coast Australia. 8-13th August 2004. FTIC Ltd. Publishing, Israël. pp. 99-116.
- [3] GOLY K. R. C., **2015**. Thèse de doctorat, Activités antimicrobiennes d'extraits de feuilles de *Hyptis suaveolens* (Poit) et de *Lippia multiflora* (Moldenke) et application à la conservation du poisson maquereau (*Scomber scombrus* Linnaeus, 1758) fume, Université Nangui ABROGOUA, 157p.
- [4] Goly KRC, Soro Y, Dadié A, Kassi ABB and Djé M. Antibacterial activity of essential oils and extracts from the leaves of *Hyptis suaveolens* and *Lippia multiflora* on multi-résistant bacteria. *Rasayan J. Chem.* (2015) 8(4), 396–403.
- [5] Yaye YG, KRA AKM, Ackah JAAB et Djaman AJ. Evaluation de l'activité antifongique et essai de purification des principes actifs des extraits de *Terminalia mantaly* (h. perrier), une combretacée, sur la croissance in vitro de *Candida albicans*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège* (2011) 80, 953-964.
- [6] Harbone JB, *Phytochemical Methods, A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis* 1998, New York.
- [7] Wood JE, Senthilmohana ST, Peskin AV. Antioxidant activity of procyanidin-containing plant extracts at different pHs. *Food Chemistry* (2002) 7(2),155–161.
- [8] Marinova D, Ribarova F, Atanassova M. Total phenolics and total flavonoids in bulgarian fruits and vegetables. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy* (2005) 40(3), 255-260.
- [9] Benhammou, N., Bekkara, F.A., Panovska, T.K., 2007. Antiradical Capacity of the phenolic compounds of *Pistacia lentiscus* L. AND *Pistacia atlantica* desf. *Adv. Food Sci.* 29, 155–161.
- [10] Constantin M. Dabire, Rémy K. Bationo, Adama Hema, Roger C.H. Nebie, Eloi Pale, S. P. Dhanabal et Mouhoussine Nacro teneur totale en composés phenoliques, profil des flavonoïdes et activite antioxydante des extraits de feuilles de lippia multiflora du Burkina faso. *Asian J. Plant Sci. Res.*, 2015, 5(5):28-33.
- [11] Sharma A, Sharma A, Batish DR. Comparative antioxidant activity of *Hyptis suaveolens* before and after hydrodistillation. *International Journal of Advance Research in Science and Engineering* (2017) 6(9), 1312- 1322.
- [12] Bonnaillie, C., Salacs M., Vassiliova, E., Saykova, I. Etude de l'extraction des composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (*arachis hypozalea* L.). *Revue de génie Industriel*, 2012, n°7, pp35-45.
- [13] Turkmen N, Sari F, Velioglu YS, *Food Chem*, 2005, 99, 835-841.
- [14] Bruneton J. *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales* 4e ed. 1999, Paris.
- [15] Muyonga JH, Andabati B & Ssepuuya G. Effect of heat processing on selected grain amaranth physicochemical properties. *Food Science & Nutrition* (2014) 2(1), 9-16.

Criblage phytochimique d'*Euphorbia Heterophylla* L

ADJEME N'Cho Michel¹, SORO Yaya²

¹UMRI 58, Laboratoire des Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles (LAPISEN), Institut National Polytechnique Félix HOUPHOUËT-BOIGNY, BP 1093 Yamoussoukro, Côte d'Ivoire

² Laboratoire des Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles (LAPISEN), Institut National Polytechnique Félix HOUPHOUËT-BOIGNY, BP 1093 Yamoussoukro, Côte d'Ivoire

Résumé : Les plantes renferment diverses molécules possédant des propriétés thérapeutiques ou responsables de l'effet toxique et servant de modèles pour synthétiser d'autres molécules plus actives. L'identification des principes actifs des plantes médicinales permet d'étudier leur efficacité, leur mode d'action et leurs effets secondaires sur la santé. C'est dans ce cadre que se situe le criblage phytochimique d'*Euphorbia Heterophylla* L, une plante douée d'activités pharmacologiques diverses mais dont les feuilles n'ont fait l'objet d'aucune étude phytochimique en Côte d'Ivoire. La poudre des feuilles de cette plante a été macérée dans un mélange hydro-éthanolique à 70%. L'extrait hydroalcoolique a été fractionné par des solvants de polarités croissantes. Les teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux ont été déterminées. Les rendements de l'extrait hydroalcoolique, des fractions au dichlorométhane et à l'acétate d'éthyle sont respectivement de 16,70 ; 8,92 et 10,78%. Le criblage phytochimique a montré la présence de stérols et terpènes, de polyphénols, de flavonoïdes, de tanins, de saponines et l'absence d'alcaloïdes. Les polyphénols et les flavonoïdes totaux sont abondants dans la fraction à l'acétate d'éthyle avec des teneurs respectives de 321,3333±4,6188 mg Eq AG/g et 482,6667±2,3094 mg Eq Quer/g. Ces résultats laissent entrevoir divers composés à élucider.

Mots clés : Criblage phytochimique, Plantes médicinales, polyphénols, *Euphorbia Heterophylla*

Phytochemical screening of *Euphorbia Heterophylla* L

Abstract: Plants contain various molecules with therapeutic properties or responsible for the toxic effect and serving as models for synthesizing other more active molecules. The identification of the active principles of medicinal plants makes it possible to study their effectiveness, their mode of action and their side effects on health. It is in this context that lies the phytochemical screening of *Euphorbia Heterophylla* L, a plant endowed with various pharmacological activities but whose leaves have not been the subject of any phytochemical study in Ivory Coast. The powder of the leaves of this plant has been macerated in a 70% hydro-ethanolic mixture. The hydroalcoholic extract was fractionated by solvents of increasing polarity. The contents of total polyphenols and flavonoids were determined. The yields of the hydroalcoholic extract, of the dichloromethane and ethyl acetate fractions are respectively 16.70; 8.92 and 10.78%. Phytochemical screening showed the presence of sterols and terpenes, polyphenols, flavonoids, tannins, saponins and the absence of alkaloids. Polyphenols and total flavonoids are abundant in the ethyl acetate fraction with respective contents of 321.3333±4.6188 mgEqAG /g and 482.6667±2.3094 mgEqQuer/g. These results suggest various compounds to be elucidated.

Keywords: Phytochemical screening, Medicinal plants, polyphenols, *Euphorbia Heterophylla*

1.Introduction

Les plantes ont été, sont et resteront une source alimentaire et de principes actifs contre les maladies [1]. Selon l'OMS 80% de la population a recours aux plantes pour se soigner [2]. En effet, elles renferment une grande diversité de molécules, possédant parfois des propriétés thérapeutiques ou responsables de l'effet toxique [3] et servant souvent de modèles pour synthétiser d'autres molécules plus actives. Il est donc indispensable de connaître les principes actifs des plantes médicinales afin d'étudier leur efficacité, leur mode d'action et leurs effets secondaires sur la santé humaine. C'est dans ce cadre que se situe le criblage phytochimique d'*Euphorbia Heterophylla* L, une plante douée d'activités pharmacologiques diverses mais dont les feuilles n'ont fait l'objet d'aucune étude phytochimique en Côte d'Ivoire.

La présente étude vise à caractériser les différentes familles de métabolites secondaires que renferment les feuilles de la plante, à quantifier les polyphénols et flavonoïdes totaux d'extraits et fractions de feuilles d'*Euphorbia Heterophylla*, de la flore ivoirienne.

2. Matériel et méthodes

2.1. Echantillonnage

2.1.1. Récolte et séchage

Les feuilles d'*Euphorbia Heterophylla* ont été récoltées le 07 juillet 2018, au jardin botanique de l'INP-HB de Yamoussoukro, au centre de la Côte d'Ivoire. Elles ont été identifiées par monsieur NGUESSAN

Amani (botaniste au département de botanique, agriculture et ressources animales de l'INP-HB). Les feuilles ont été séchées au laboratoire pendant 21 jours, à l'abri des rayons du soleil (température comprise entre 26° C et 30° C).

2.1.2. Pulvérisation

Après séchage, les feuilles d'*Euphorbia Heterophylla* ont été broyées au mortier puis tamisées à l'aide d'un tamis de 0,40 mm de diamètre pour obtenir une fine poudre de couleur verte qui est conditionnée dans un bocal de verre. La photo ci-dessous présente la poudre de feuilles sèches d'*Euphorbia Heterophylla*.



Photo : poudre de broyat des feuilles séchées d'*Euphorbia Heterophylla*

2.2.Extractions

2.2.1. Extraction solide-liquide par macération

Un mélange de 100 g de broyat de feuilles et de 1L de solvant éthanol/eau (70/30) est agité à température ambiante pendant 24 h à l'aide d'un agitateur magnétique. Le mélange est filtré à l'aide de coton puis de papier wattman. L'opération est répétée trois (3) fois sur le marc pour épuisement. Tous les filtrats sont réunis et concentrés au Rotavapor pour donner l'extrait hydroéthanolique(EH/A).

2.2.2. Extraction liquide-liquide

Une masse de 1,67g de l'extrait hydroéthanolique de feuilles d'*Euphorbia Heterophylla* est dissoute dans 50 mL d'eau. La phase aqueuse ainsi obtenue a été soumise à une extraction liquide-liquide dans une ampoule à décanter avec une succession de solvants organiques par ordre de polarité croissante [4] : Hexane, dichlorométhane, acétate d'éthyle, éthanol et l'eau. Les portions de chaque phase organique sont réunies et évaporées à sec conduisant aux fractions respectives : la fraction à l'hexane(F_{HEX}), la fraction au dichlorométhane(F_{DCM}), la fraction à l'acétate d'éthyle(F_{ACE}), la fraction à l'éthanol(F_{ETH}) et la fraction aqueuse(F_{AQ})

2. 3. Criblage phytochimique

Des tests de caractérisation basés sur des réactions de précipitation et de coloration ont été réalisés sur le broyat, les extraits et fractions selon la méthode [5] pour identifier les familles de métabolites secondaires présentes dans les feuilles d'*Euphorbia Heterophylla*. Les familles recherchées sont les polyphénols, flavonoïdes, stérols et terpènes, alcaloïdes, tanins et les saponines.

2. 3. Dosage spectrophotométrique des polyphénols totaux et flavonoïdes totaux.

Le dosage des polyphénols totaux par la méthode de Wood *et al.*, [6] et celui des flavonoïdes totaux selon la méthode décrite par Marinova *et al.*, [7]

3.Resultats et discussion

3.1. Extractions

Le rendement de l'extrait hydroalcoolique (E_{HA}) de broyats de feuilles de *Euphorbia Heterophylla* ainsi que ceux des fractions sont donnés dans le tableau II.

L'extraction solide-liquide réalisée pour l'obtention de l'extrait hydroalcoolique a donné un rendement de 16,70%. Pour les extractions liquide-liquide ou fractionnement les rendements varient de 10,92% avec le dichlorométhane à 45,30% avec l'eau comme solvant. L'on constate que les rendements

d'extraction obtenus sont fonction des solvants utilisés. L'extraction avec l'eau pour l'obtention de la fraction aqueuse a donné le rendement le plus élevé. Cela pourrait s'expliquer par le fait que l'eau soit un solvant très polaire connu pour extraire une large gamme de molécules telles que les glucides, les protéines [8]. Cette valeur pourrait aussi s'expliquer par la présence de résidu dans la phase aqueuse. Nos valeurs sont supérieures à celles trouvées par Halilu et ses collaborateurs [9] dans leurs travaux d'études comparatives sur les activités phytochimiques et antioxydantes de *Tapinanthus globiferus* *Piliostigma thonningii* (A. Rich) et de sa plante hôte (Schum). IL est rapporté dans la littérature que les rendements d'extraction dépendent des espèces de plantes étudiées, de la taille des particules, la température, le temps d'extraction, le degré d'agitation et la méthode utilisée [10]. Ce fait pourrait justifier les différences observées.

Tableau I : Rendements d'extraction

Types d'extrait et fractions	Rendements (%)
Hydroalcoolique ($E_{H/A}$)	16,70
Hexane (F_{HEX})	13,75
Dichlorométhane (F_{DCM})	10,92
Acétate d'éthyle (F_{ACE})	16,78
Ethanol (F_{ETH})	11,38
Eau (F_{AQ})	45,30

3.2. Criblage phytochimique des extraits et fractions

Le criblage phytochimique réalisé sur le broyat montre que les feuilles d'*Euphorbia Heterophylla* renferment plusieurs familles de métabolites secondaires à savoir les stérols et terpènes, les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins, les anthocyanes, et les saponines. La présence de ces familles de composés a été signifiée par Okeniyi et ses collaborateurs en 2012 [11] tandisqu' Edoaga et al., ont relevé l'absence de saponine et de stérols [12] dans leurs travaux respectifs au Nigéria. Les résultats mettent aussi en évidence l'absence d'alcaloïde qui a été également rapportée par Falodun et ses collaborateurs [13] et aussi par Okeniyi et al., dans leurs travaux [11]. L'on pourrait déduire de ces résultats que nous sommes en présence d'un chimotype d'*Euphorbia Heterophylla*. L'extrait hydroalcoolique regorge toutes les familles de métabolites secondaires relevées dans le broyat de feuilles ; ce qui confirme la capacité de ce solvant à extraire la quasi-totalité des métabolites secondaires présents dans les organes de plantes [10]. Aussi l'on observe une distribution de ces composés dans les différentes fractions selon les solvants de fractionnement utilisés (Tableau II). La richesse d'*Euphorbia Heterophylla* en métabolites secondaires pourrait être la source des nombreuses propriétés biologiques, pharmacologique et thérapeutiques énumérées dans la littérature.

Tableau II : Résultats des criblages phytochimiques de broyat de feuilles, de l'extrait hydroalcoolique et des fractions issues de l'extrait.

Familles de métabolites secondaires	Broyats de feuilles	Extrait et fractions					
		$E_{H/A}$	F_{HEX}	F_{DCM}	F_{ACE}	F_{ETH}	F_{AQ}
Stérols et terpènes	+	+	+	+	-	-	-
Polyphénols	+	+	-	+	+	+	+
Flavonoïdes	+	+	-	+	+	+	+
anthocyanes	+	+	-	-	+	+	+
Tanins	+	+	-	-	+	+	+
Alcaloïdes	-	-	-	-	-	-	-
Saponines	+	+	-	-	-	-	+

Présence : + ; Absence : -

3.3. Dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes totaux.

Le dosage des polyphénols totaux nous a conduit à différentes valeurs de concentrations selon les solvants d'extraction solide-liquide et liquide-liquide utilisés (Figure 1). La teneur en polyphénol de l'extrait hydroalcoolique est de $134,0000 \pm 3,4641$ mgEqAG/g MS. Quant aux différentes fractions elles varient entre 0 et $321,3333 \pm 4,6188$ mgEqAG/g MS. La concentration la plus élevée en polyphénol a été mesurée dans la fraction acétate d'éthyle avec un taux de $321,3333 \pm 4,6188$ mg Eq AG/g MS. Ce qui pourrait faire de l'acétate d'éthyle, un bon solvant pour l'extraction de polyphénols. Si l'on compare les résultats avec ceux de la littérature, on constate que la teneur en polyphénols totaux de la fraction acétate d'éthyle ($321,3333 \pm 4,6188$ mgEqAG/g) est supérieure par rapport à celle trouvée par Muhammad et ses collaborateurs soit $190,1 \pm 1,21$ mgEqAG/g [14]. Cette différence pourrait se justifier par l'utilisation de différente méthode d'extraction. Aussi, plusieurs facteurs peuvent influencer sur la teneur en polyphénols. Des travaux ont montré que des facteurs géographiques et climatiques, les facteurs génétiques, le degré de maturation de la plante et la durée de stockage du matériel végétal ont une forte influence de la teneur en polyphénols [15, 16, 17]. Les polyphénols totaux, métabolites secondaires synthétisés par les plantes pendant leur croissance pour faire face aux infections, aux blessures et radiation UV [18] sont très bénéfiques sur la santé humaine. Leur présence dans les feuilles d'*Euphorbia Heterophylla*, justifierait l'utilisation de la plante notamment les feuilles pour le traitement du cancer en médecine traditionnelle au Nigéria [19]

La teneur en flavonoïdes totaux de nos différents échantillons de feuilles d'*Euphorbia Heterophylla* se présente dans l'ordre FACE > EH/A > FAQ > FETH > FDCM (Figure 2). La fraction acétate d'éthyle est la plus chargée en flavonoïdes totaux et la fraction au dichlorométhane la moins chargée.

L'acétate d'éthyle pourrait de ce fait être considéré comme un bon solvant pour l'extraction de flavonoïdes. Ces résultats montrent aussi que l'abondance des flavonoïdes dans les extraits et fractions sont fonction des solvants utilisés comme l'a rapporté Marc dans ses travaux [20]. Les flavonoïdes sont une classe de métabolites secondaires douée de propriétés biologiques et de potentiels thérapeutiques. Leur présence significative pourrait justifier l'utilisation des feuilles d'*Euphorbia Heterophylla* dans le traitement de certaines pathologies telles que le cancer [19], les indigestions, la dysenterie, les maux d'estomac, la toux, l'asthme [21] en médecine traditionnelle.

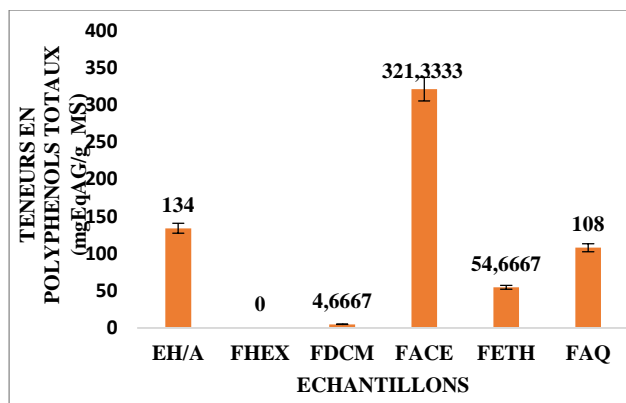


Figure 1 : Teneurs en polyphénols totaux (mgEqAG/g MS)

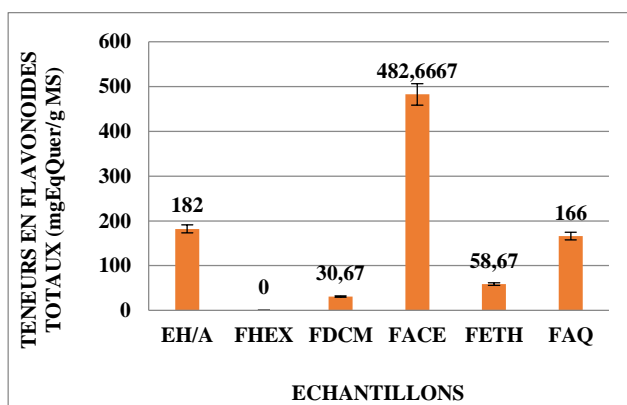


Figure 2 : Teneurs en flavonoïdes totaux (mgEqQuer/g MS)

4-Conclusion

Les rendements des extractions réalisées varient selon les solvants utilisés. Les feuilles d'*Euphorbia Heterophylla* renferment la quasi-totalité des métabolites secondaires recherchés (stérols et terpènes, polyphénols, flavonoïdes, tanins, saponines) dans notre étude exceptés les alcaloïdes. Les teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux sont plus élevées dans la fraction acétate d'éthyle. Ces résultats laissent entrevoir des différences d'activités et de composés que nous nous attèlerons à élucider.

5. Bibliographie

- [1] - Vercauteren J. Plan Du Cours De Pharmacognosie-Formation Commune De Base. 2011. 347p.
- [2]-Pierangeli G., Vital G. et Windell Rivera L. J. *Medic. Plants Res.* 2009. 3 (7) 511.
- [3]-Linuma M., Kanie Y., Tanaka T., Mizuno M., Lang F. A.. Constituants of *Vancouveria hexandra*. *Heterocycles*, 1993. 35(1): 407-413.
- [4]-Bouamama H., Noël T. et Villard J., Antimicrobial activities of the leaf extracts of two Moroccan *Cistus L.* species. *Journal of Ethnopharmacology* 2006, 104, 104-107.
- [5]-Harbone J.B. *Phytochemical Methods, A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis* 1998 *New York, ISBN:0-412-57260-5*.
- [6]-Wood J.E., Senthilmohan S.T., Peskin A.V. Antioxydant activity of prodyanidin-containing plant extracts at different pHs. *Food Chem.* 2002, 77: 155-161.
- [7]-Marinova, D., Ribarova, F. and Atanassova, M. Total Phenolics and Total Flavonoids in Bulgarian Fruits and Vegetables. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy.* 2005, 40, 255-260.
- [8] -Bonnaillie C., Salacs M., Vassiliova E., Saykova I. Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (*Arachis hypogaea* L.). 2012, 35-45
- [9]-Halilu M. E., Hassan L.G., Liman M. G., Babagana A. U.C. J., Audu Y. Comparative Studies on Phytochemical and Antioxidant activities of *Tapinanthus globiferus Piliostigma thonningii* (A. Rich) and its host plant (Schum). *Advance Pharmaceutical Journal* .2017, 2(5): 179-184
- [10]-Perva -Uzunalic, A., Skerget, M., Knez, Z., Weinreich, B., Otto, F. et Grunner, S. Extraction of active ingredients from green tea (*Camellia sinensis*): Extraction efficiency of major catechins and caffeine. *Food Chemistry.* 2006, 96(4): 597-605.
- [11]-Okeniyi, S.O., Adedoyin, B. J., and Garba, S., Phytochemical Screening, Cytotoxicity, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Stem and Leave Extracts of *Euphorbia heterophylla*. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences.* 2012, Volume 1 (8): 87 – 91
- [12]-Edeoga H.O., Okwu D. E. & Mbaebie B.O., Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology.* 2005, 4 (7):685-688.
- [13]-Falodun A., Ali S., Quadir I.M.& Choudhary I.M.I. Phytochemical and biological investigation of chloroform and ethylacetate fractions of *Euphorbia heterophylla* leaf (Euphorbiaceae). *Journal of Medicinal Plants Research.* 2008, 2(12):365-369.
- [14]-Muhammad, A. A., Hina, S., Aziz-ur- Rehman, Tauheeda, R. and Muhammad, A. Determination of Antioxidant Activity and Phytoconstituent Screening of *Euphorbia Heterophylla* Linn. *British Journal of Pharmaceutical Research.* 2013, 3(2): 202- 216.
- [15]-Aganga A.A., Mosase K.W. Tannins content, nutritive value and dry matter digestibility of *Lonchocarpus capussa*, *Ziziphus mucropata*, *Sclerocarya birrea*, *Kirkia acuminata* and *Rhus lancea* seeds. *Animal Feed Science and Technology.* 2001, 91 :107-113.
- [16] - Fiorucci S. Activités biologiques de composés de la famille de flavonoïdes : approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire. Thèse de doctorat. Nice 2006, 211p.
- [17] -Pedneault K., Leonharts., Angenol., Gosselin A., Ramputh A., Arnason J. T. Influence de la culture hydroponique de quelques plantes médicinales sur la croissance et la concentration en composés secondaires des organes végétaux. Texte de conférence. Canada 2001, 1-5.
- [18] -Laurence J. Les Antioxydants, un bienfait contre le cancer. 2008, 2 p.
- [19]-Ashidi, J.S., Houghton, P.J., P.J. Hylands, P.J., Efferth, T. Ethnobotanical survey and cytotoxicity testing of plants of South-western Nigeria used to treat cancer, with isolation of cytotoxic constituents from *Cajanus cajan* Millsp. leaves *Journal of Ethnopharmacology* .2010, 128, 501–512.
- [20]- Marco G.J. A rapid method for evaluation of antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society* .1968, 45.
- [21] -Saraka A. I., Camara D., Bene K.& Zirihi G. N., 2018. Enquête ethnobotanique sur les Euphorbiaceae médicinales utilisées chez les Baoulé du District de Yamoussoukro (Côte d'Ivoire) *Journal of Applied Biosciences* 2018, 26 : 12734-12748.

***Alchornea cordifolia* (Euphorbiaceae) : Influence du type et du temps d'extraction sur les phytophénols et leurs potentiels antioxydant et analgésique**

Pierre Alain Kouassi KONAN^a, Kohué Christelle Chantal N'GAMAN-KOUASSI^a, Janat Akhanovna MAMYRBEKOVA-BÉKRO^a, Yves-Alain BÉKRO^a.

^a Laboratoire de Chimie Bio-Organique et de Substances Naturelles

(LCBOSN, www.lablcbosn.com), UFR-SFA, Université Nangui Abrogoua, 02 BP 801 Abidjan 02 (Côte d'Ivoire)

E-Mail : pierredesprogres@gmail.com

Résumé : L'emploi de plantes médicinales est courant, et se présente comme une alternative aux problèmes complexes et urgents de la santé des populations. L'extraction des phytophénols est la première étape à franchir dans l'analyse des principes actifs végétaux et joue un rôle crucial dans la fiabilité des tests analytiques. Cette étude a pour objectif l'évaluation de l'influence du type d'extraction sur la composition chimique des extraits de feuilles de *Alchornea cordifolia*. Le dosage spectrophotométrique des phytophénols [1-3] et l'évaluation de l'activité analgésique [4] ont été réalisés. Les résultats montrent une influence significative des méthodes d'extractions sur les différents teneurs. Quelle que soit la méthode utilisée une forte corrélation positive a été observée entre les teneurs en polyphénols et l'activité antioxydante (DPPH et FRAP). De plus, les décoctés ont enregistré les plus fortes inhibitions de la douleur induite par le formol. Le temps d'extraction a une influence sur la composition chimique et les activités biologiques des extraits testés. La présente étude contribue à promouvoir les phytophénols et justifie l'usage de la décoction comme mode de préparation des recettes médicamenteuses, couramment employé en pratique médicale, endogène et populaire.

Mots clés : phytophénol, temps et méthode d'extraction, analgésique, antioxydant.

Abstract : The use of medicinal plants is common, and presents itself as an alternative to the complex and urgent problems of the health of populations. The extraction of phytophenols is the first step to be taken in the analysis of plant active ingredients and plays a crucial role in the reliability of analytical tests. This study aims to evaluate the influence of the type of extraction on the chemical composition of *Alchornea cordifolia* leaf extracts. The spectrophotometric dosage of phytophenols [1-3] and the evaluation of the analgesic activity [4] were carried out. The results show a significant influence of the extraction methods on the different contents. Regardless of the method used, a strong positive correlation was observed between polyphenol content and antioxidant activity (DPPH and FRAP). Moreover, the decoctions recorded the strongest inhibitions of formalin-induced pain. The extraction time has an influence on the chemical composition and the biological activities of the tested extracts. This study contributes to promoting phytophenols and justifies the use of decoction as a mode of preparation of medicinal recipes, commonly used in medical practice, endogenous and popular.

Key words : phytophenol, time and method of extraction, analgesic, antioxidant.

1. Introduction

Espèce de la famille des Euphorbiaceae, *Alchornea cordifolia* (Schumacher & Thonn.) Müll. Arg., est largement utilisée en pharmacopée ivoirienne, en décoction ou macération, pour ces propriétés antalgiques, anti-inflammatoires, antimicrobiens, antiparasitaires, veinotoniques, antioxydantes, antidiabétiques et astringentes (Kerharo et Adam, 1974 ; Tra Bi et al., 2008). Ces activités biologiques peuvent être attribuées aux composés phénoliques (flavonoïdes, coumarines, acides phénols et tanins). En effet, les polyphénols sont des antioxydants importants puisqu'ils empêchent ou ralentissent l'oxydation en neutralisant des radicaux libres (Noundou et al., 2015). Pour cela, les polyphénols doivent d'abord être extraits de la matrice végétale au moyen d'un extracteur approprié avant toute analyse. L'extraction est donc l'étape initiale à franchir dans l'analyse des principes actifs végétaux. Elle dépend de plusieurs facteurs notamment la nature du solvant, la température, la méthode et le temps d'extraction (Liorach et al., 2004). L'optimisation du taux d'extraction des composés bioactifs s'avère nécessaire puisque l'efficacité des extraits dépend de leur composition chimique (Santos et al., 2016). C'est dans ce cadre que cette étude a été initiée dans le but d'évaluer l'effet du temps et de la méthode d'extraction sur l'extraction des composés phénoliques et les activités antioxydante et analgésique des extraits d'organes de *A. cordifolia*.

2. Matériel et méthodes

Le matériel végétal est constitué des feuilles, tiges et racines de *Alchornea cordifolia* récolté sur le site de l'Université Nangui Abrogoua (Abidjan / Côte d'Ivoire). Les organes ont été nettoyés, séchés sous climatisation permanente (20°C, 15 jours) et réduites en poudre à l'aide d'un broyeur électrique.

2.1 Préparation des extraits

Trois techniques d'extraction ont été utilisées : la macération, la décoction et l'extraction au Soxhlet.

Macération : 5g de poudre d'organes sont macérés à température ambiante dans 40 ml d'EtOH absolu pendant 1h (M1), 1h 30 min (M2) et 2 h (M3). Après filtration sous vide, les macérés sont concentrés à l'aide d'un évaporateur rotatif (BÜCHI) à 35°C puis conservés.

Décoction : 5g de poudre d'organes sont repris dans 40 ml d'EtOH absolu et chauffé à reflux (78,3°C) pendant 1h (D1), 1h 30 min (D2) et 2 h (D3). Après refroidissement à température ambiante et filtration sous vide, les décoctés sont concentrés à l'aide d'un évaporateur rotatif (BÜCHI) à 35°C et conservés.

Extraction au Soxhlet : une cartouche Whatman contenant 5g de poudre d'organes sont introduits dans la chambre d'extraction d'un Soxhlet, connecté à un ballon contenant 150 ml d'EtOH absolu. L'extraction est conduite pendant 1h (S1), 1h 30 min (S2) et 2h (S3). Après refroidissement sont concentrés à l'aide d'un évaporateur rotatif (BÜCHI) à 35°C et conservés.

2.2 Tests quantitatifs : dosage des polyphénols totaux, dosage des flavonoïdes totaux, dosage des tanins condensés

Phénols totaux (PT) : les PT ont été déterminés en ajoutant à 1 ml d'extrait alcoolique, 1,5 ml de Na₂CO₃ (17%, m/v) et 0,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (0,5N). Le mélange est incubé durant 30 min à l'obscurité et l'absorbance lue à 760 nm. Un étalonnage avec l'acide gallique (0-1000 µg/ml) est réalisé dans les mêmes conditions et les PT sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de la matière sèche (mg EAG/g MS) [1].

Flavonoïdes totaux (FT) : Les FT ont été déterminés en ajoutant à 100 µl de réactif de Neu 2 ml d'extrait végétal alcoolique ou de quercétol (0,05 mg/ml). L'absorbance du mélange est lue à 404 nm et le pourcentage des FT est déterminé selon la formule [2] :

$$F(\%) = \frac{0,05 \frac{A_{ext}}{A_q}}{C_{ext}} \times 100$$

Où **Aext.** : Absorbance du l'extrait ; **Aq.** : Absorbance du quercétol ; **Cext.** : Concentration de l'extrait.

Tanins condensés (TC) : On ajoute à 400 µl d'extrait alcoolique, 3 ml d'une solution méthanolique de vanilline (4%, m/v) et 1,5 ml de HCl concentré. Après 15 min à température ambiante, l'absorbance du mélange est lue à 500 nm. Une droite d'étalonnage est réalisée avec la catéchine (0-300µg/ml) préparée dans les mêmes conditions. Les TC obtenus sont exprimés en milligramme équivalent catéchine par gramme d'extrait sec (mg EC/g MS) [3].

2.3 Évaluation spectrophotométrique de l'activité antioxydante

Test DPPH : À 0,4 ml d'extrait végétal alcoolique sont additionnés 1,2 ml d'une solution méthanolique de DPPH (0,03 mg/ml). Le mélange est ajusté avec 2,4 ml de MeOH, et l'absorbance du mélange lue à 517 nm toutes les 3 min pendant 30 min contre un blanc. Les extraits et la vitamine C sont préparés aux

concentrations (0,128 ; 0,0357 ; 0,0014 ; 0,001 et 0,00071 mg/ml) [10]. Les pourcentages de réduction (PR) du DPPH sont déterminés à partir de l'équation suivante :

$$\text{PR}(\%) = \left(1 - \frac{A_e}{A_b}\right) \times 100$$

L'efficacité des échantillons vis-à-vis du DPPH a été évalué par la détermination graphique de la CR_{50} (concentration qui réduit 50% du DPPH) [11].

Test FRAP : Le réactif FRAP utilisé est un mélange de tampon acétate de sodium (300 mM, pH= 3,6), de TPTZ (2, 4, 6-Tri (2-pyridyl) -s-triazine à 10 mM préparé dans une solution de HCl à 40 mM) et de FeCl_3 (20 mM) dans un rapport volumique 10 : 1 : 1. Le réactif FRAP fraîchement préparé est préalablement chauffé à 37°C dans un bain-marie. 100 μl de Trolox (0,187 ; 0,375 ; 0,75 et 1,5 mM) et les échantillons à tester sont préparés à 0,25 mg/ml, et ajoutés à 3 ml du réactif FRAP. L'absorbance du complexe (TPTZ- Fe^{3+}) est lue à 593 nm après 4 min au spectrophotomètre UV-visible (Analytic AL800). Les résultats sont exprimés en mM Trolox équivalent avec la droite d'étalonnage établie du Trolox [12].

2.4 Activité analgésique

Le test au formaldéhyde a été utilisé pour évaluer l'efficacité des extraits sur la douleur. Le lot témoin de souris a reçu de l'eau distillée tandis que les autres lots ont été traités avec les extraits de *A. cordifolia* (100 mg/kg), l'aspirine (100 mg/kg) et le trabar (30 mg/kg). Une heure avant l'injection de 20 μl de la solution de formaldéhyde (2,5%) à la patte postérieure droite, les souris ont reçu oralement les extraits et les produits de référence. Immédiatement après l'injection de la solution de formaldéhyde, le nombre de léchage de la patte traitée a été dénombré pendant les cinq premières minutes, puis entre 15-30 minutes [4]. L'effet analgésique a été déterminé par la relation suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{\text{NI témoin} - \text{NI traité}}{\text{NI témoin}} \times 100$$

NI traité = nombre de léchages de la patte des souris du lot témoin ; **NI témoin** = nombre de léchages de la patte des souris du lot traité.

2.5 Analyses statistiques

Les résultats sont exprimés sous la forme moyenne \pm écart type. L'analyse de variance à un critère de classification (ANOVA) a été utilisée pour comparer les teneurs en phytophénols, les activités antioxydantes et l'inhibition de la douleur induite par le formaldéhyde à l'aide du logiciel Graph Pad Prism version 5. Lorsqu'une différence significative existe entre les moyennes ($P < 0,05$), le test de comparaison multiple des moyennes est effectué (test de Turkey) pour déterminer le niveau de différence entre les différents groupes d'extraits [13].

3. Résultats et discussion

3.1 Teneurs en polyphénols totaux dans les parties de *A. cordifolia*

Les résultats du dosage des phénols totaux (**Tableau I**) es extraits totaux des organes de *A. cordifolia* ont été déterminés à partir de l'équation de la droite d'étalonnage de l'acide gallique prise comme standard ($y = 0,0232 x + 0,0002$; $R^2 = 0,9983$). Les teneurs déterminées ont été exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS)

Quel que soit l'organe, les teneurs en PT obtenues par macération augmentent avec le temps (60 min à 120 min). De plus, quel que soit le type d'extraction, les racines présentent significativement ($p < 0,001$) les plus faibles teneurs en polyphénols. Pour la décoction et l'extraction au Soxhlet on note l'impact de

la température. Le traitement thermique provoque une déshydratation de la paroi des cellules en réduisant sa résistance mécanique ; ce qui permet une pénétration facile du solvant d'extraction, et la structure fragilisée aide à libérer rapidement les solutés dans le solvant [14]. L'augmentation de la température favorise l'extraction des composés phénolique en augmentant d'une part, le coefficient de diffusion, la solubilité des solutés dans l'extracteur et d'autre part la diminution de la viscosité du solvant [15].

Tableau I : Teneurs en polyphénols totaux dans les parties de *A. cordifolia*

Organes	Temps (min)	Teneurs en polyphénols totaux (mg EAG/g MS)		
		Macération	Décoction	Soxhlet
Feuilles	60	108,22 ± 0,15	129,26 ± 0,02	155,12 ± 0, 05
	90	109,09 ± 0,01	118,91 ± 0,08	175,03 ± 0,01
	120	111,5 ± 0,15	114,6 ± 0,4	183,57 ± 0,01
Racines	60	64,86 ± 0,26	73,4 ± 0,15	48,66 ± 0,83
	90	71,67 ± 0,15	77,53 ± 0,28	52,53 ± 0,65
	120	72,28 ± 0,14	70,55 ± 0, 40	61,41 ± 0,68

3.2

Dosages des flavonoïdes totaux (FT)

Les teneurs en flavonoïdes totaux exprimées en mg EAG/g MS sont en proportions variables et fonction de l'organe, du procédé et du temps d'extraction (Tableau II).

Quel que soit l'organe, les teneurs en FT des macérés augmentent en fonction du temps. De plus, les teneurs en FT des racines obtenues par décoction et extraction au Soxhlet présentent la même évolution. Cependant, on note l'impact de la température sur les teneurs dans les feuilles. En effet, les plantes synthétisent les flavonoïdes grâce au rayonnement solaire pour se protéger de l'oxydation ; plus l'exposition aux rayons solaires augmente et plus les teneurs en FT augmentent surtout dans les parties les plus exposées [16]. Il faut cependant noter qu'elles sont à la fois thermo et photosensibles [17].

Tableau II : Teneurs en flavonoïdes totaux des organes de *A. cordifolia*

Organes	Temps (min)	Teneurs en flavonoïdes totaux (mg EAG/g MS)		
		Macération	Décoction	Soxhlet
Feuilles	60	28,52 ± 0,13	42,05 ± 0,25	44,54 ± 0,35
	90	31,21 ± 0,25	35,82 ± 0,01	56,24 ± 0,22
	120	33,92 ± 0,22	33,75 ± 0,13	64,38 ± 0,82
Racines	60	10,07 ± 0,08	12,09 ± 0,01	11,27 ± 0,12
	90	11,23 ± 0,14	19,51 ± 0,09	12,83 ± 0,62
	120	12,24 ± 0,30	21,16 ± 0,08	17,88 ± 0,06

3.3 Dosages des tanins condensés (TC)

Le **Tableau III** présente les teneurs en tanins condensés (mg EC/g MS) des extraits. La droite d'étalonnage de la catéchine ($y = 0,004 x + 0,006$) a servi pour la détermination de ces teneurs.

Quel que soit l'organe, la macération a donné les teneurs en tanins condensés significativement ($p < 0,05$) plus importantes que les autres méthodes. Les teneurs en TC obtenues par macération croissent avec une augmentation du temps d'extraction. Cependant, au niveau des décoctés et des extraits au Soxhlet, cette teneur baisse lorsque le temps d'extraction est prolongé. Les baisses en TC enregistrées pourraient être dues à la dégradation sous l'effet de la chaleur des TC. En outre, les feuilles de *A. cordifolia* renferment significativement ($p < 0,001$) plus de tanins condensés que les racines.

Tableau III : Teneurs en tanins condensés totaux dans les parties de *A. cordifolia*

Organes	Temps (min)	Teneurs en tanins condensés (mgEC/g MS)		
		Par macération	Par décoction	Par Soxhlet
Feuilles	60	31,67 ± 0,62	22,5 ± 0,63	10,0 ± 0,62
	90	34,17 ± 0,8	14,17 ± 0,01	28,75 ± 0,30
	120	36,25 ± 0,95	12,92 ± 0,36	12,92 ± 0,40
Racines	60	12,67 ± 0,07	7,38 ± 0,03	3,83 ± 0,07
	90	15,88 ± 0,13	8,04 ± 0,14	4,58 ± 0,26
	120	16,42 ± 0,19	7,88 ± 0,01	6,21 ± 0,14

3.4 Profils antioxydants DPPH et FRAP

3.4.1 Activité antioxydante DPPH

Les échantillons mis au contact des radicaux libres ont réduit ces radicaux et les différents pourcentages de réduction obtenus ont été utilisés pour déterminer graphiquement les CR_{50} . Les CR_{50} déterminées graphiquement pour chaque type d'extrait d'organe sont indiquées sur le **Tableau IV**.

Au niveau des feuilles, quel que soit la méthode d'extraction, les valeurs des CR_{50} diminuent lorsque le temps d'extraction augmente jusqu'à 120 min qui correspond à l'augmentation de l'activité antioxydante. Le temps d'extraction prolongé a un impact positif sur l'activité antioxydante des extraits de feuilles. Les extraits au Soxhlet ont présenté une activité antioxydante plus importante, suivis des décoctés. Cependant cette différence n'est pas significative. Comme pour les feuilles, les CR_{50} des extraits de racines diminuent avec une augmentation du temps d'extraction. Cependant au-delà de 90 min, une hausse des CR_{50} dans les décoctés et les extraits au Soxhlet a été observée dans ces organes. Ce qui correspond à une baisse de l'activité antioxydante dans ces extraits. En outre, en général les décoctés et les extraits au Soxhlet ont enregistré les plus fortes activités dans les extraits de racines.

Tableau IV : CR₅₀ des extraits d'organes de *A. cordifolia*

Organes	Temps d'extraction (min)	Temps d'incubation (min)	CR ₅₀ (mg/ml)			
			Macération	Décoction	Soxhlet	
Feuilles	60	3	0,0030	0,0032	0,0024	
		15	0,0027	0,0025	0,0018	
		30	0,0024	0,0024	0,0016	
	90	3	0,0028	0,0029	0,0024	
		15	0,0023	0,0021	0,0017	
		30	0,0022	0,0020	0,0014	
	120	3	0,0023	0,0022	0,0020	
		15	0,0018	0,0013	0,0013	
		30	0,0017	0,0012	0,0012	
	Racines	60	3	0,025	0,011	0,011
			15	0,0093	0,0066	0,0087
			30	0,0077	0,0059	0,0077
90		3	0,014	0,0077	0,0066	
		15	0,0083	0,0046	0,0035	
		30	0,0074	0,0039	0,0032	
120		3	0,0068	0,0082	0,0083	
		15	0,0046	0,0050	0,0060	
		30	0,0037	0,0042	0,0051	

3.4.2 Activité antioxydante FRAP

L'évaluation du profil antioxydant FRAP a été réalisé avec les extraits des organes de *A. cordifolia* en déterminant leur potentiel de réduction du Fe³⁺ en Fe²⁺. La présence des ions Fe²⁺ a été évaluée par la mesure de l'augmentation de la densité due à la coloration bleue du milieu réactionnel [18]. Les activités FRAP des extraits mesurés à 0,25 mg/ml, ont été exprimées en mM TE/g MS à partir de la droite d'étalonnage du Trolox et indiquées dans le **Tableau V**. L'activité antioxydante FRAP de la vitamine C dans les mêmes conditions est de 6,45 mM TE/g MS.

Les feuilles et les tiges ont enregistré significativement les activités antioxydantes les plus importantes. Quel que soit l'organe, l'activité maximale dans les macérés a été observé au bout de 120 min. Alors que chez les extraits au Soxhlet, les plus fortes activités sont enregistrées en 90 min. La décoction a présenté les plus fortes activités en 60 min, 90 min et 120 min, respectivement chez les tiges, les racines et dans les feuilles. Dans l'ensemble au sein d'un organe l'activité antioxydante FRAP varie très peu en fonction de la méthode et du temps d'extraction.

Tableau V : Profils antioxydants FRAP des extraits d'organes de *A. cordifolia*

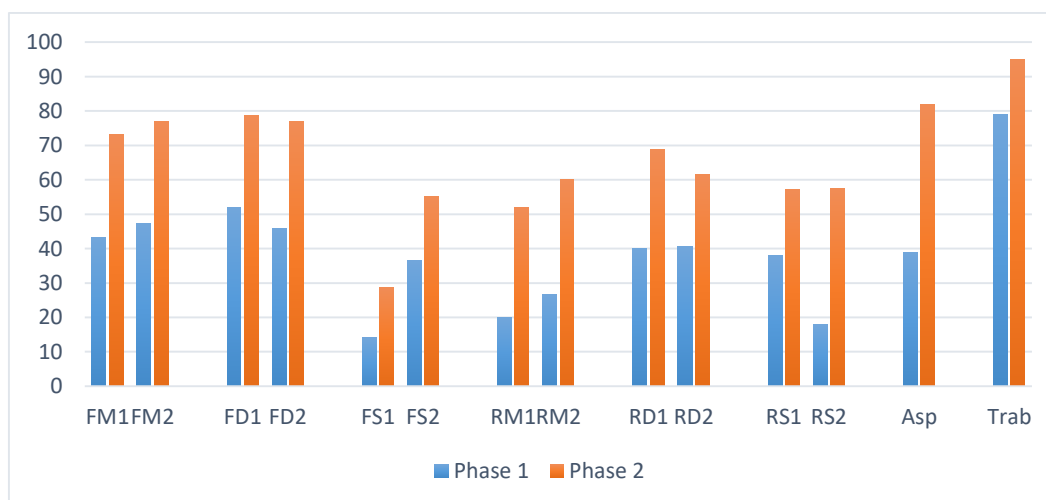
Partie de plante	Temps (min)	Activité antioxydante FRAP (mM TE/ gMS)		
		Macération	Décoction	Soxhlet
Feuilles	60	4,37± 0,015	4,18 ± 0,26	5,53 ± 0,021
	90	4,55±0,012	4,91± 0,015	5,6 4± 0,015
	120	5,28± 0,036	5,50± 0,018	4,32 ± 0,01
Racines	60	0,34 ± 0,00	0,56 ± 0,00	0,47 ± 0,00
	90	0,35 ± 0,001	0,82 ± 0,00	0,53 ± 0,001
	120	0,43 ± 0,00	0,62 ± 0,001	0,42 ± 0,001

3.5

Activité analgésique

Le test au formaldéhyde a été utilisé pour évaluer l'activité analgésique des macérés, des décoctés et des extraits au Soxhlet des feuilles et racines de *A. cordifolia*. Les extraits choisis sont ceux obtenus en 60 min et 120 min d'extraction et administrés à la dose 100 mg/kg de MC (milligramme par kilogramme de masse corporelle). Les résultats des effets des extraits végétaux, comparés à l'effet de l'acide acétylsalicylique (Aspirine) et du tramadol (Trabar) sur la douleur provoquée, sont traduits en pourcentage d'inhibition (%) (**Figure 1**).

Les résultats montrent que tous les extraits des organes de *A. cordifolia* ont inhibé significativement les deux types de douleur induits par l'injection de formaldéhyde. De plus, ces extraits ont eu un effet inhibiteur remarquable dans la seconde phase. L'activité des macérés de tous les organes croit lorsque le temps d'extraction augmente (60 min à 120 min). Cependant, cet effet n'est pas observé chez les décoctés des feuilles et des racines et les extraits au Soxhlet des racines. Cette baisse pourrait être dû à l'effet de chauffage qui est au centre de ces deux méthodes (décoction et le Soxhlet). En outre, la décoction a été significativement ($p < 0,001$) plus efficace chez les feuilles et les racines. Ainsi l'impact du temps et de la méthode d'extraction sur l'activité analgésique des extraits est avéré.

Figure 1 : Profils analgésiques des extraits d'organes de *A. cordifolia*

4. Conclusion

L'analyse quantitative par spectrophotométrie a montré l'abondance des polyphénols et l'influence significative de la méthode et du temps d'extraction sur les teneurs en composés phénoliques, l'activité antioxydante (DPPH et FRAP) et l'activité analgésique. Les extraits obtenus par décoction et par Soxhlet ont enregistré les meilleurs teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes totaux et les plus fortes activités antioxydante et analgésique. Cependant, la macération a été plus efficace pour l'extraction des tanins condensés dans les organes de cette plante.

5. Bibliographie

- [1] Singleton V.L., Ortofer R., Lamuela-Raventos R.M. (1999). Analysis of total phenol and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. Packed L(ed) Methods in enzymology Orlando Academic Press, 152-178.
- [2] Hariri E.B., Sallé G., Andary C. (1991). Involvement of flavonoids in the resistance of two poplar cultivars to mistletoe (*Viscum album* L). *Protoplasma*, 162(1) : 20-26.
- [3] Heilmer D., Vignini P., Dini M.G., Vincieri F.F., Romani A. (2006). Antiradical activity and polyphenol composition of local Brassicaceae edible varieties. *Food chemistry*, 99 : 464-469.
- [4] Ouédraogo N., Lompo M., Sawadogo R. W., Tibiri A, Hay A. E, Koudou J., Dijoux M. G, Guissou I. P. (2012). Étude des activités anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique des décoctés aqueux des feuilles et des racines de *Pterocarpus erinaceus* Poir. (Fabaceae). Article In *Phytotherapie*, 10 (5) : 286-292.
- [5] Kerharo J. et Adam J. G. (1974). Pharmacopée Sénégalaise traditionnelle - Plantes médicinales et toxiques. Paris Edition Vigot frères, 1011.
- [6] Tra Bi F. H., Irié G. M., N'gaman K. C. C., Mohou B. H. C. (2008). Etudes de quelques plantes thérapeutiques utilisées dans le traitement de l'hypertension artérielle et du diabète : deux maladies émergentes en Côte d'Ivoire. *Sciences et Nature*, 5 (1): 39-48.
- [7] Noundou X. S., Krause R. W. M., Vuuren V. S. F., Ndinteh D. T., Olivier D. K. (2015). Antibacterial effects of *Alchornea cordifolia* (Schumacher and Thonn.) Müll. Arg extracts and compounds on gastrointestinal, skin, respiratory and urinary tract pathogens. *Journal of ethnopharmacology*, 179 :76-82.
- [8] Liorach R., Thomas-Barberan F.A., Ferreres F. (2004). Lettuce and chicory by products as a source of antioxidant phenolic extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 5109-5116.
- [9] Santos S.S., Deolindo C.T.P., Esmerino L.A., Genovese M.I., Fuita A., Marques M.B., Rosso N.D., Daguer H., Valesse A.C.V., Granato D. (2016). Effects of time and extraction temperature on phenolic composition and functional properties of red rooibos (*Aspalathus linearis*). *Food research international*, 89: 476-487.
- [10] Espin J. C., Soler-Rivas C., Wichers H. J. (2000). Characterization of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. *Journal of agricultural and chemistry*, 48 (3): 648-656.
- [11] Eteko D. S., N'Gaman-Kouassi C. C., Mamyrbekova-Békro J. A., Békro Y. (2018). Antioxidant profiles of alcoholic tinctures from *Heterotis rodundifolia* (SM.) Jacq. Fél. (Melastomaceae) by DPPH radical trapping. *European journal of biomedical and pharmaceutical sciences*, 10 (5): 39-45.
- [12] Gong J., Huang J., Xiao G., Chen F., Lee B., You Y., Liu S., Zhang Y. (2016). Antioxidant Capacities of Fractions of Bamboo Shaving Extract and Their Antioxidant Components. *Molecules*, 21 (996) :1-14.
- [13] Westlake W. J. (1971). A one-sided version of the Turkey-Duckworth test. *Technometrics*, 13 (4): 901-903.
- [14] Dahmoune F., Boulekbache L., Moussi K., Aoun O., Spigno G., Madani K. (2013). Valorization of *Citrus limon* residues for the recovery of antioxidants: evaluation and optimization of microwave and ultrasound application to solvent extraction. *Industrial Crops and Products*. 50: 77-87.
- [15] Tan P. W., Tan C. P., Ho C. W. (2013). Effect of extraction solvent system, time and temperature on total phenolic content of henna (*Lawsonia inermis*) stems. *International Food Research Journal*, 20 (6): 3117-3123.
- [16] N'Gaman K. C. C. (2013). Étude phytochimique et effet d'extraits de *Gmelina arborea* Roxb. (Verbenaceae) de Côte d'Ivoire sur la stabilité osmotique d'érythrocytes. Thèse unique de doctorat. Université d'Abobo-Adjamé Côte d'Ivoire, 152.
- [17] Ioannou I., Hafsa I., Hamdi S., Charbonnel C., Ghoul M. (2012). Review of the effects of food processing and formulation on flavonol and anthocyanin behavior. *Journal of Food Engineering*, 111: 208-217.
- [18] Hinneburg L., Dorman, H. J. D. et Hiltunen R. (2006). Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. *Food chemistry*, 97(1): 122-129.

Caractérisation chimique des huiles essentielles de feuilles de *Oricia suaveolens* (Rutaceae) de Côte d'Ivoire.

KOUAO Toffe Alexis¹, OUATTARA Zana Adama¹, KAMBIRÉ Didjour Albert², KOUAME Bosson Antoine¹, MAMYRBEKOVA-BEKRO Janat Akhanovna¹, TOMI Felix³, BEKRO Yves-Alain¹

¹Laboratoire de Chimie Bio-Organique et de Substances Naturelles, Université NANGUI ABROGOUA, 02 BP 801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire

²Laboratoire de Chimie Organique Biologique, Université Felix Houphouët Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire

³Centre National de la Recherche Scientifique, Unité Mixte de Recherche 6134, Équipe Chimie et Biomasse, Université de Corse, 2000 Ajaccio, France

Auteur correspondant, E-mail : zana150419@gmail.com

Résumé : Ce travail s'inscrit dans la continuation de nos travaux sur la caractérisation des huiles essentielles des plantes aromatiques de Côte d'Ivoire. L'objectif de cette étude est de déterminer la composition chimique de 5 huiles essentielles de feuilles de *Oricia suaveolens* récoltées sur des pieds individuels distant d'au moins 1 km. L'analyse des huiles essentielles, obtenues par hydrodistillation, par CPG-Ir et CPG-SM a été réalisée. 37 phytoconstitués représentant de 77,6 à 87,7% de la composition chimique totale ont été identifiés. Le composé majoritaire est le (E)- β -caryophyllène (33,5-46,7%). Le (E)- β -farnésène (1,6-9,3%), l' α -humulène (4,0-5,9%) et l'oxyde de caryophyllène (2,1-16,9%) sont présents en proportion non négligeable. Cette étude a permis la détermination de la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de *Oricia suaveolens* pour la première fois. Cette huile est dominée par le (E)- β -caryophyllène. La réalisation de tests biologiques sur les échantillons est envisagée.

Mots-clés : Huile essentielle, *Oricia suaveolens*, CPG-Ir, CPG-SM.

Chemical characterization of essential oils from the leaves of *Oricia suaveolens* (Rutaceae) from Côte d'Ivoire.

Abstract: This work is part of the continuation of our work on the characterization of essential oils of aromatic plants in Côte d'Ivoire. The objective of this study is to determine the chemical composition of 5 essential oils from *Oricia suaveolens* leaves collected from individual plants at least 1 km apart. The analysis of essential oils, obtained by hydrodistillation, by GC-RI and GC-MS was carried out. 37 phytoconstituents representing 77.6 to 87.7% of the total chemical composition have been identified. The majority compound is (E)- β -caryophyllene (33.5-46.7%). (E)- β -farnesene (1.6-9.3%), α -humulene (4.0-5.9%) and caryophyllene oxide (2.1-16.9%) are present in significant proportion. This study allowed the determination of the chemical composition of the essential oil of the leaves of *Oricia suaveolens* for the first time. This oil is dominated by (E)- β -caryophyllene. The performance of biological tests on the samples is envisaged.

Keywords: Essential oil, *Oricia suaveolens*, GC-RI, GC-MS.

1. Introduction

La flore ivoirienne présente une large biodiversité qui profite à la médecine traditionnelle, utilisée par la majorité des populations rurales. Des programmes de recherches scientifiques ont été initiés, en vue de valoriser les plantes aromatiques et médicinales issues de la flore ivoirienne à travers la caractérisation chimique de leurs huiles essentielles. Les huiles essentielles constituent la matière première de l'aromathérapie, une médecine qui utilise leurs diverses propriétés et activités biologiques à des fins préventives ou curatives [1]. Elles font également l'objet d'une énorme consommation dans divers secteurs industriels dont la pharmacie, la parfumerie, la cosmétique, l'agro-alimentaire (pâtisserie, confiserie, dérivés culinaires, etc.), ce qui leur confère un caractère économique poussé [2]. Ce travail s'inscrit dans la continuité des travaux réalisés sur la caractérisation des huiles essentielles des plantes médicinales aromatiques de la Côte d'Ivoire [3-6]. *Oricia suaveolens* (Engl.) Verd. (Rutaceae) est une espèce végétale médicinale utilisée en médecine traditionnelle contre les maux de dents, la fièvre et les parasites [7]. La littérature rapporte quelques études phytochimiques sur l'espèce. La skimmianine, la kokusaginine, la monrifoline et la limonine ont été identifiées dans les racines [8]. Les composés tels que l'orisuaveoline A, l'orisuaveoline B, la quinosuaveoline A et la quinosuaveoline B ont été isolés des tiges et des feuilles [9]. Par contre, aucune étude ne mentionne la composition chimique des huiles essentielles de feuilles de *O. suaveolens*. Cette étude est donc une contribution à la caractérisation chimique des huiles essentielles extraites des feuilles de *O. suaveolens* de Côte d'Ivoire.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel

Le matériel végétal est constitué de feuilles de *O. suaveolens* récoltées dans la forêt de petit Yapo, une division de la forêt de Yapo-Abbé (5° 43' 50,5" Nord, 4° 4' 41,9" Ouest) Agboville (Côte d'Ivoire). Les organes ont été séchés pendant trois jours sous climatisation permanente à une température de 18°C.

2.2. Méthodes

2.2.1. Extraction

Les huiles essentielles ont été extraites avec un distillateur de type Clevenger pendant 3h30 min puis conservée au réfrigérateur (4°C).

2.2.2. Analyse

Les huiles ont été analysées par CPG-Ir et CPG-SM. Les huiles essentielles sont dissoutes dans le chloroforme deutéré (50 µl d'HE dans 350 µl de CDCl₃) avant d'être injectées.

2.2.3. Identification

Les données relatives à chaque composé (indices de rétention et spectres de masse) ont été comparées à celles répertoriées dans des bibliothèques élaborées au laboratoire de " Chimie et Biomasse" de l'Unité Mixte de Recherches de l'Université Pascal Paoli de Corse (France).

3. Résultats et discussion

Les rendements des huiles essentielles obtenues sont faibles et varient de 0,05-0,08%. La combinaison des méthodes analytiques CPG (Ir) et CPG-SM a conduit à l'identification de 20 à 37 composés représentant (77,6-87,7%) de la composition chimique totale de l'huile essentielle (**Tableau I**).

L'interprétation de la composition de ces huiles montrent qu'elles sont riches en sesquiterpènes (76,7-82,4%). On constate également que les composés linéaires non terpéniques représentent 3,3-6% et sont parfois absents chez certains échantillons. Il faut également noter une faible proportion de diterpènes (0,4-2,5%) et de monoterpènes (0,2- 1,7%).

Le composé majoritaire de ses huiles est le (E)-β-caryophyllène avec des proportions allant de 33,5% à 46,7%. Le (E)-β-farnésène (1,6-9,3%), l'α-humulène (4,0-5,9%) et l'oxyde de caryophyllène (2,1-16,9%) sont présents en proportion non négligeable chez quelques échantillons. Cette variation serait due, selon quelques études scientifiques à certains facteurs écologiques tels que l'âge de l'espèce végétale et à la période du cycle végétatif pendant laquelle la récolte a été effectuée [10].

Le (E)-β-caryophyllène est le composé prédominant des HE des feuilles de *O. suaveolens* et qu'on peut rencontrer dans les HE de certaines espèces aromatiques des Rutaceae à des proportions variables. Ainsi l'HE extraite des feuilles de *Boucharatia neurococca* est dominée par les sesquiterpènes dont β-caryophyllène (38,5%) [11]. Dans l'HE des feuilles de *M. peninsularis* β-caryophyllène représente (30-49%) de la composition chimique [12].

Tableau I : Composition chimique des huiles essentielles des feuilles de *O. suaveolens*

N°	Composés	Ira	Irp	% ^a F1	% ^a F2	% ^a F3	% ^a F4	% ^a F5
1	(E)-Hex-2-éнал	823	1225	2,4	-	-	-	-
2	(Z)-Hex-3-en-1-ol	838	1387	-	1,3	-	-	-
3	(Z)-Hex-2-én-1-ol	842	1408	2,7	1,4	-	-	-
4	Hexan-1-ol	845	1352	0,9	0,6	-	-	-
5	α-Pinène	929	1020	0,4	0,3	-	1,3	0,2
6	(E)-β-Ocimène	1035	1235	0,2	-	-	0,2	-
7	Linalool	1083	1549	1,1	0,8	-	-	-
8	β-Bourbonene	1383	1520	-	0,2	-	-	0,3
9	(E)-β- funebrene	1386	1538	-	3,8	2,5	-	-
10	β-Elemene	1387	1520	-	-	-	4,0	1,3
11	(E)-β-Caryophyllène	1417	1600	39,3	33,5	38,7	46,7	42,0
12	trans-α-Bergamotène	1431	1587	1,4	2,3	2,3	2,1	1,6
13	α-Sesquisabinène	1434	1645	3,4	3,5	2,0	0,8	0,7
14	(E)-β-Farnésène	1446	1669	9,3	8,8	5,9	2,9	1,6
15	α-Humulène	1448	1669	4,0	4,3	4,6	5,8	5,9
16	Y-Muuroloène	1464	1683	-	0,2	0,2	0,2	0,3
17	Y-Curcumène	1471	1691	0,8	0,5	0,2	-	-
18	Germacrène D	1474	1709	1,3	1,7	1,1	1,6	0,3
19	b- selinene	1481	1718	-	0,7	0,5	0,4	-
20	Bicyclogermacrène	1489	1733	0,2	0,3	0,3	0,6	-

21	(Z)- α -Bisabolène	1491	1729	0,7	1,0	0,6	0,6	0,3
22	(E, E)- α -Farnésène	1495	1751	2,4	4,6	3,8	1,3	0,3
23	β -bisabolène	1499	1727	-	1,1	1,3	1,1	0,8
24	β -Curcumène	1500	1741	1,8	0,9	-	-	-
25	β - Sesquiphellandrène	1513	1770	2,6	2,7	1,9	1,1	0,4
26	(E)-Y-bisabolène	1521	1757	-	0,5	0,5	0,4	-
27	<i>trans</i> -hydrate Sesquisabinène	1529	1992	1,2	1,1	0,8	-	-
28	β -Elémol	1532	2080	2,4	1,8	0,8	0,3	0,2
29	(E)-Nérolidol	1547	2043	1,1	1,2	0,7	1,6	1,4
30	<i>cis</i> -hydrate Sesquisabinène	1563	2086	1,8	1,1	1,6	0,2	0,3
31	Oxyde de Caryophyllène	1567	1981	2,1	2,9	7,7	5,1	16,8
32	<i>cis</i> -7- <i>épi</i> - Sesquisabinène	1574	2100	0,5	0,5	0,4	-	-
33	Guaiol	1583	2089	0,7	0,7	-	-	-
34	Oxyde d'Humulène II	1592	2037	0,2	0,6	1,3	0,4	2,2
35	Y-eudesmol	1619	2164	-	0,3	-	-	-
36	Zingibérénol II	1613	2113	0,3	0,4	0,5	0,3	-
37	β -eudesmol	1633	2119	-	0,2	-	-	-
38	α -eudesmol	1637	2124	-	0,3	0,2	0,3	-
39	β -bisabolol	1654	2151	-	0,7	0,4	-	-
41	(Z)-Phytol	2095	2522	2,5	-	-	-	-
42	(E)-Phytol	2097	2608	-	0,4	0,7	1,3	0,7
Total				87,7	87,2	81,5	80,6	77,6
Composés linéaires non terpéniques				6	3,3	-	-	-
Monoterpènes hydrocarbonés				0,6	0,3	-	1,5	0,2
Monoterpènes oxygénés				1,1	0,8	-	-	-
Sesquiterpènes hydrocarbonés				67,2	70,6	66,4	69,6	55,8
Sesquiterpènes oxygénés				10,3	11,8	14,4	8,2	20,9
Diterpènes				2,5	0,4	0,7	1,3	0,7

L'ordre d'éluion et les pourcentages (%^a) sont donnés sur colonne apolaire (BP-1) ; *Ira* et *Irp* : indices de rétention mesurés respectivement sur colonne apolaire (BP-1) et polaire ((BP-20).

4. Conclusion

Cette étude a permis, pour la première fois, de déterminer la composition chimique des huiles essentielles extraites des feuilles de *O. suaveolens* de Côte d'Ivoire. L'analyse réalisée par les méthodes chromatographiques nous a permis de mettre en évidence plusieurs constituants largement dominés par les sesquiterpènes dont (E)- β -caryophyllène en était le composé majoritaire.

5. Bibliographie

- [1]. Pénéol D. Aromatherapy: for health professionals, Ed 2. Churchill Livingstone, Elsevier, 1999, 8-33.
- [2]. Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. Biological effects of essential oils - A review. *Food and Chemical Toxicology*, 2008, 46, 446-475.
- [3]. Kouao T.A., Kouame B.A., Ouattara Z.A., Mamyrbekova-Bekro J.A., Bighelli A., Tomi F., Békro Y.-A. Chemical characterisation of essential oils of leaves of two Solanaceae: *Solanum rugosum* and *Solanum erianthum* from Côte d'Ivoire. *Natural Product Research*, 2021, 35, 2420-23.
- [4]. Kambiré D.A., Boti J.B., Yapi A.T., Ouattara Z.A., Bighelli A., Casanova J., Tomi F. New Natural Oxygenated Sesquiterpenes and Chemical Composition of Leaf Essential Oil from Ivorian *Isolona dewevrei* (De Wild. & T. Durand) Engl. & Diels. *Molecules*, 2020, 25, 5613.
- [5]. Kambiré D.A., Boti J.B., Ouattara Z.A., Yapi A.T., Bighelli A., Tomi F., Casanova J. Leaf essential oil from Ivorian *Isolona dewevrei* (Annonaceae): Chemical composition and structure elucidation of four new natural sesquiterpenes. *Flavour and fragrance Journal*, 2020, 00, 1-12.
- [6]. Ouattara Z.A., Yapi Thierry A., Békro Y.-A., Mamyrbékova-Békro A.J., Paoli M., Tomi P., Casanova J., Bighelli A., Tomi F. Composition and Chemical Variability of Root Bark oil from Ivorian *Cleistopholis patens*. *Natural Product Communications*, 2018, 13, 767-770.
- [7]. Maurice M.I. Handbook of African Medicinal Plants. Second Edition, CRC Press, 2014, 508.
- [8]. Fouotsa H., Mbaveng A.T., Mbazoa C.D., Nkengfack A.E., Choudhary I.M., Meyer J.J.M., Lall N., Kuete V. Antibacterial constituents of three Cameroonian medicinal plants: *Garcinia nobilis*, *Oricia suaveolens* and *Balsamocitrus camerunensis*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 13, 1-10.

Glycosylflavones antibactériennes des feuilles de *Erythrococca anomala* (Euphorbiaceae) de Côte d'Ivoire

OKPEKON Aboua Timothée^{1,*}, KOUAME Tapé Ulrich^{1,2}, SERI Séri Chardin¹, SAY Venance Martial¹, SEON-MENIEL Blandine², LE POGAM Pierre², CHAMPY Pierre²

1. Laboratoire de Chimie et Réaction de la Matière, UFR de Sciences des Structures de la Matière et de Technologie, Université Félix Houphouët Boigny, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.

2. Laboratoire de Pharmacognosie, UMR 8076 CNRS BioCIS, Faculté de Pharmacie, Université Paris-Saclay, 92296 Châtenay-Malabry Cedex, France.

Résumé : *Erythrococca anomala* (Juss. ex Poir.) Prain (Euphorbiaceae), arbuste épineux et dioïque, pouvant atteindre 3m de haut, est une plante nutritionnelle et médicinale d'Afrique subsaharienne. Les feuilles de cette plante représentent un remède traditionnel apprécié, notamment pour expulser les ténias, tout en étant également doté de propriétés analgésiques, antipaludiques, antiseptiques et purgatives [1,2]. Dans une récente étude, nous avons montré que ces feuilles possèdent des propriétés antibactériennes [3]. Dans nos efforts continus de rechercher des composés bioactifs de plantes médicinales Ivoiriennes [4,5], nous avons entrepris une étude phytochimique sur cet organe. Cette étude, conduite en employant la chromatographie liquide à haute performance (HPLC), en détection UV et/ou SM, pour les séparations et les purifications, sous assistance des analyses par dérplication, a abouti à l'isolement de C-glycosylflavones parmi lesquelles deux sont de structures nouvelles. Ces composés ont été caractérisés grâce à leurs données spectroscopiques (SM, IR, UV, RMN). Les deux C-glycosylflavones nouvelles qui ont montré une cytotoxicité négligeable sur les cellules cancéreuses du cervical humain (SiHa, $IC_{50} > 100 \mu\text{g.mL}^{-1}$) donnent une activité antibactérienne importante sur *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Mycobacterium smegmatis*. Plus loin, ces composés seront évalués sur d'autres souches bactériennes afin d'établir leur spectre antibactérien.

Mots clés : *Erythrococca anomala*, C-Glycosylflavones, Activité antibactérienne, Euphorbiaceae

Abstracts: *Erythrococca anomala* (Juss. ex Poir.) Prain (Euphorbiaceae), thorny and dioecious shrub, that can grow up to 3m high, is a nutritional and medicinal plant from sub-Saharan Africa. The leaves of this plant are a popular traditional remedy, especially for expelling tapeworms, while also having analgesic, antimalarial, antiseptic and purgative properties [1,2]. In a recent study, we have shown that these leaves possess antibacterial properties [3]. In our ongoing efforts to search for bioactive compounds from Ivorian medicinal plants [4,5], we undertook a phytochemical study on this organ. This study, conducted using high performance liquid chromatography (HPLC), in UV and/or MS detection, for separations and purifications, under deriplication analyzes assistance, resulted in the isolation of C-glycosylflavones among which two are novel structures. These compounds were characterized using their spectroscopic data (MS, IR, UV, NMR). The two novel C-glycosylflavones which showed negligible cytotoxicity on human cervical cancer cells (SiHa, $IC_{50} > 100 \mu\text{g.mL}^{-1}$) give significant antibacterial activity on *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Mycobacterium smegmatis*. Further, these compounds will be evaluated on other bacterial strains to establish their antibacterial spectrum.

Keywords: *Erythrococca anomala*, C-Glycosylflavones, Antibacterial activity, Euphorbiaceae

1. Introduction

Erythrococca anomala (Juss. ex Poir.) Prain (Euphorbiaceae) est un arbuste épineux et dioïque pouvant atteindre 3m de haut. Cette plante comestible et médicinale est largement répandue en Afrique subsaharienne dans les reliques forestières de la savane, les forêts riveraines et les fourrés côtiers. La décoction des feuilles représente un remède traditionnel apprécié, notamment pour expulser les ténias, tout en étant également dotée de propriétés analgésiques, antipaludiques, antiseptiques et purgatives [1,2]. Bien que les différentes sous-familles des Euphorbiaceae aient été inégalement étudiées d'un point de vue phytochimique, aucun rapport n'a pu être trouvé sur les constituants chimiques des espèces appartenant au genre *Erythrococca*. Toutefois, dans une récente étude, nous rapportons que les feuilles de *Erythrococca anomala* possèdent des propriétés antibactériennes [3]. Dans nos efforts continus de rechercher des composés bioactifs de plantes médicinales Ivoiriennes [4,5], nous avons entrepris une étude phytochimique sur cet organe. Pour cette étude, une stratégie de réseau moléculaire a été entreprise sur l'extrait éthanolique des feuilles de *Erythrococca anomala*. Ceci a entraîné la dérplication de C-glycosylflavones structurellement proches qui a abouti à l'isolement de six composés dont deux nouveaux. Cet article rapporte l'isolement, la purification et la détermination structurale des C-glycosylflavones nouvelles ainsi que leurs activités antibactérienne et cytotoxique

2. Matériel et méthodes

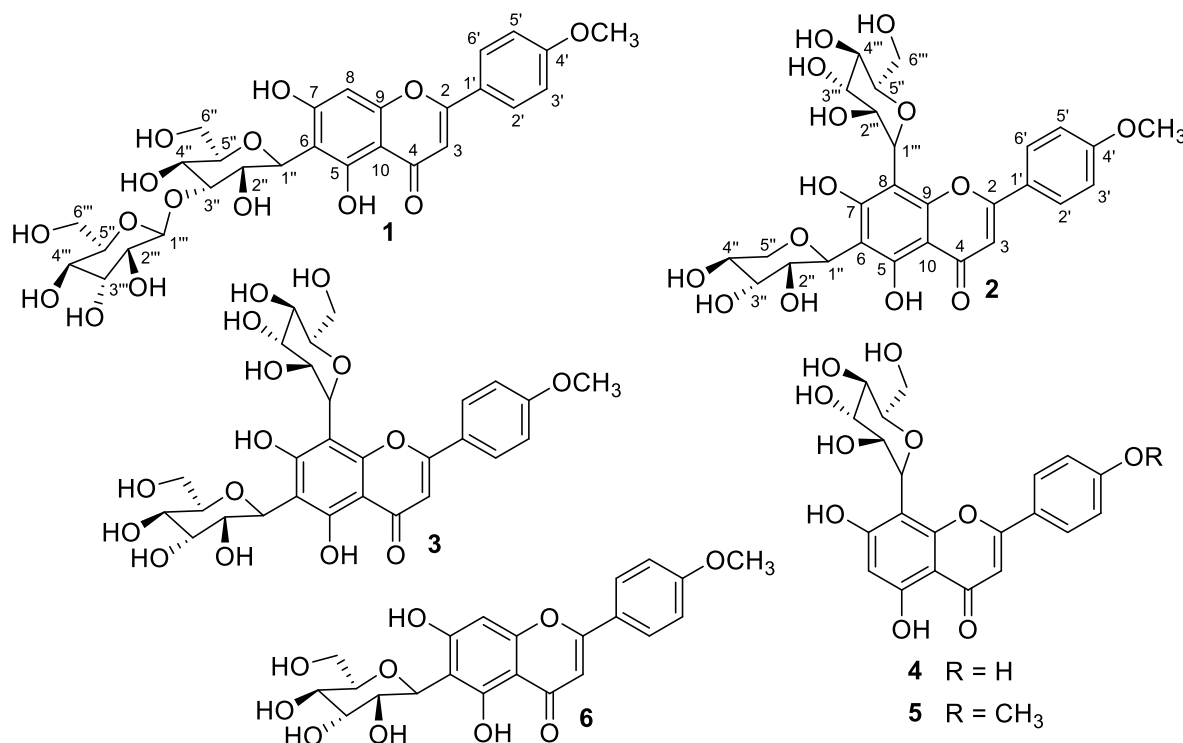
2.1. Général

Les spectres RMN ont été enregistrés sur un Bruker AM-400 (400 MHz), et sur un spectromètre Bruker Avance III 500 MHz (Bruker, Bremen, Allemagne). Les spectromètres de RMN ont été calibrés en utilisant des signaux résiduels de solvant comme références. Des analyses HPLC analytiques ont été réalisées à l'aide d'un système Agilent LC-MS comprenant un Agilent 1260 Infinity HPLC couplé avec un Agilent 6530 ESI-Q-TOF-MS fonctionnant en polarité positive. Les séparations par chromatographie sur colonne ouverte ont été réalisées sur gel de silice (40-63 μm , Kiesegel, Merck) à pression atmosphérique ou avec Sephadex LH-20 (25-100 μm , Pharmacia Fine Chemicals, USA). Des colonnes C_{18} préparatives Sunfire (150 \times 30 mm, Waters) ont été utilisées pour les analyses HPLC. Les données de la page 321

3. Résultats et discussion

3.1. Isolement et structure des composés

L'analyse préliminaire par LC-MS de l'extrait éthanolique des feuilles séchées de *Erythrococca anomala* indiquait sur son chromatogramme ionique total (TIC) la présence de pics d'ion moléculaire à m/z 609,1816 et 579,1713, non détectés auparavant suite à l'analyse par déréplication des flavones C-glycosylées. Les points de repère MS² observés lors de cette déréplication nous ont amenés à orienter nos efforts d'isolement vers ces composés spécifiques prioritaires en raison de leur nouveauté structurelle présumée. L'isolement de ces composés, réalisé par fractionnement chromatographique sur colonnes de gel de silice suivi de purification par HPLC à barrette de diode (DAD), fourni les deux composés **1** et **2** ainsi que la vicénine-2 (**3**) [11], la vitexine (**4**) [12], la trématine (**5**) [13] et l'isocytisose (**6**) [14] (**Figure 1**). Les structures de ces composés ont pu être déduites grâce à leurs données spectroscopiques.



Le composé **1** a été isolé sous la forme d'un solide amorphe optiquement actif avec une formule moléculaire de C₂₈H₃₂O₁₅ (m/z 609,1816 [M + H]⁺, calculé pour C₂₈H₃₃O₁₅, 609,1814), déduite de son spectre de masse HR-SMIES. Conformément aux observations de spectrométrie de masse en tandem qui ont suggéré une flavone C,O-diglycosylée, les données de RMN ¹H et ¹³C (**Tableau I**) ont indiqué une flavone substituée en C-6 (ou C-8) comprenant deux sites anomères résonnant à (δ_H 4,68/ δ_C 72,5) et à (δ_H 4,36/ δ_C 104,1) qui ont été respectivement diagnostiques de leur statut de C-glycosylé et O-glycosylé, respectivement [15]. Les autres signaux de sucre semblaient se chevaucher entre δ_H 3,07 et 3,71. Les spectres de RMN ¹H ont révélé un signal oléfinique à δ_H 6,87/ δ_C 103,5 typique d'un signal H-3 de flavone, un signal aromatique à δ_H 6,55/ δ_C 93,6 confirmant le statut pentasubstitué du cycle A, deux doublets à δ_H 8,04 et 7,11 (2H chacun, $d, J = 9,0$ Hz), typique d'un système de spins A₂B₂ du cycle B de flavones substituées en 4' et d'un groupe méthoxy à δ_H 3,86 (3H, s). L'emplacement du groupe méthoxy a été établi sur la base des corrélations des protons résonnant à δ_H 3,86 et C-4' (δ_C 163,3) et des protons aromatiques à δ_H 7,11 (H-3'/H-5') et à δ_C 8,04 (H-2'/H-6') à C-4'. Au total, ces données ont déterminé le composant aglycone de **1** sous forme d'acacétine [16]. Le spectre RMN ¹³C a révélé 12 signaux de sucre attribuables à deux unités hexose. L'analyse prudente des déplacements chimiques RMN ¹³C du C-6 (δ_C 108,4) et du C-8 (δ_C 93,6) rappelait ceux des dérivés d'apigénine/acacétine glycosylés en C-6 tels que l'isovitexine [15], les paraquinines A-C [17], ou les flavones glycosylées en C-6 de *Anthurium versicolor* [18] alors que les flavones glycosylées en C-8 affichent des valeurs de déplacement chimique du ¹³C autour de δ_C 99,0 et δ_C 105,0 pour C-6 et C-8, respectivement [18,19].

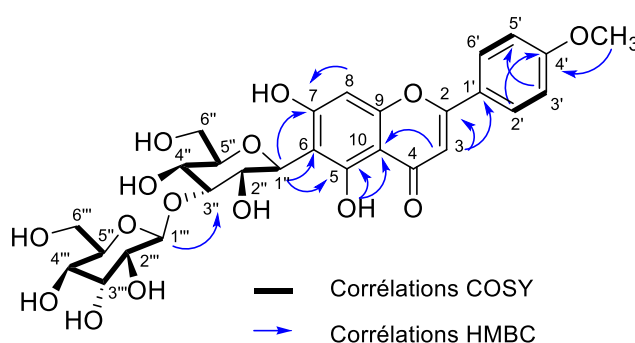
Les corrélations HMBC observées entre le proton anomérique détecté à δ_H 4,68 (H-1') et le groupe hydroxyle lié à l'hydrogène à δ_H 13,59 (5-OH) à C-5 et C-6 ont confirmé que le disaccharide était lié par une liaison glycosidique en C-6 (**Figure 2**). La séquence de protons du sucre interne a pu être déduite du spectre COSY de H-1' à H-6' mais les multiplicités et les constantes de couplage n'ont pas pu être clairement lisibles dans les spectres enregistrés dans le DMSO-d₆. Une deuxième unité hexosyle a également pu être déterminée et l'absence de tout déplacement de glycosidation en RMN ¹³C a confirmé qu'il s'agissait de l'unité terminale. Les données de RMN ¹³C ont révélé un décalage de glycosidation en C-3' (δ_C 90,5) qui a établi la liaison (1-

> 3) entre les unités glycosyle. Une corrélation HMBC du proton anomérique à δ_H 4,36 (H-1') à C-3' (δ_C 90,5) a confirmé cette liaison interglycosidique. Pour déterminer les constantes de couplage liées aux composants des sucres de **1**, de nouveaux spectres RMN ont été acquis dans le CD₃OD (**Tableau I**). Les grandes valeurs de constantes de couplage des protons anomères ($J_{H-1''-H-2''} = 10,0$ Hz et $J_{H-1'''-H-2'''} = 7,9$ Hz) ont déterminé la configuration β des deux fractions de sucre. Par la suite, l'orientation axiale des protons de sucre restants H-2'' à H-5'' et H-2''' à H-5''' a pu être déduite de la grande amplitude de leurs valeurs de constantes de couplage, telles que rassemblées dans le **Tableau I**. Ces données ont confirmé la partie glucidique de **1** comme étant laminaribiose, en excellent accord avec les données de RMN précédemment rapportées par Hamburger et ses collègues dans le CD₃OD et le DMSO-d₆ sur des C-glycosylflavones étroitement apparentées [20]. En conséquence, le composé **1** a été déterminé comme étant la 6-C-[β -D-glucopyranosyl-(1- > 3)- β -D-glucopyranoside]acacétine que nous avons nommée Anomaloflavone.

Tableau I : RMN ¹H et ¹³C du composé **1**

N°	¹³ C (δ , ppm) ^a	¹ H (δ , ppm), m (J, Hz) ^a	¹³ C (δ , ppm) ^b	¹ H (δ , ppm), m (J, Hz) ^b
2	163,1		166,0	
3	103,5	6,87, s	104,5	6,65, s
4	182,0		184,2	
5	160,8		162,3	
6	108,4		109,1	
7	163,4		165,1	
8	93,6	6,55, s	95,3	6,52, s
9	153,6		158,9	
10	103,4		105,2	
1'	122,7		124,5	
2'	128,3	8,04, d (7,5)	129,2	7,94, d (8,4)
3'	114,6	7,11, d (7,5)	115,6	7,09, d (8,4)
4'	162,3		164,5	
5'	114,6	7,11, d (7,5)	115,6	7,09, d (8,4)
6'	128,3	8,04, d (7,5)	129,2	7,94, d (8,4)
1''	72,5	4,68, d (8,0)	74,9	4,94, d (10,0)
2''	68,6	4,32, t (8,0)	71,6	4,42, dd (10,0, 9,5)
3''	90,5	3,38, m	90,1	3,65, dd (9,5, 8,8)
4''	69,0	3,25, m	70,0	3,58, t (8,8)
5''	81,4	3,25, m	82,8	3,45, m
6''	61,1	3,42, m	63,0	3,74, dd (12,0, 5,4)
		3,72, dd (11,5, 5,0)		3,90, dd (12,0, 2,1)
1'''	104,1	4,36, d (8,0)	105,4	4,62, d (7,9)
2'''	73,8	3,10, t (8,0)	75,6	3,31, ov

3'''	76,1	3,18, t (8,0)	78,8	3,38, t (8,8)
4'''	70,1	3,06, t (8,0)	71,5	3,31, ov.
5'''	76,9	3,22, m	78,1	3,36, m
6'''	61,3	3,42, m	62,7	3,66, dd (12,1, 5,5)
		3,69, dd (11,5, 3,5)		3,90, dd (12,1, 2,1)
4'-OCH ₃	55,5	3,86, s	56,2	3,89, s
5-OH	-	13,59, s		

^a Données acquises dans le DMSO-d₆^b Données acquises dans le MeOH-d₄Figure 2 : Corrélations importantes observées en RMN 2D de **1**

Le composé **2** a été isolé comme solide amorphe avec une masse précurseur à m/z 579,1713, suggérant la formule moléculaire de $C_{27}H_{30}O_{14}$ (calculée pour $C_{27}H_{31}O_{14}$, 579,17083) qui correspond vraisemblablement à un 6-C-pentosyl-8-C-hexosyl basé sur son schéma de fragmentation. Conformément à l'hypothèse basée sur MS² développée précédemment, le spectre de RMN ¹H de **2**, enregistré dans le DMSO-d₆ (**Tableau II**), indiquait que ce composé est une flavone 6,8-C-diglycosylée à première vue. Les données spectroscopiques ont en effet indiqué la présence de cinq protons aromatiques différents, dont quatre appartenant à un système de spins AA'BB', à δ_H 8,15 et 8,07 (1H chacun, d, $J = 8,4$ Hz, H-2' et H-6'), et à δ_H 7,13 et 7,08 (1H chacun, d, $J = 8,4$ Hz, H-3'/H-5') tandis que le signal de flavone H-3 résonnait encore sous forme de singulet large à δ_H 6,88 (1H, sl). De même, un examen superficiel des données de RMN ¹³C a révélé un jumelage plus ou moins évident de la plupart des signaux du cycle A et des signaux liés au sucre, avec l'apparition de quatre protons anomériques différents, incompatibles avec la composition élémentaire de **2**. Les attributions de la RMN ¹³C, déduites du spectre HSQC pour les carbones anomères résonnant autour de δ_C 75 ppm, ont confirmé leur statut C-glycosylé attendu par MS². La corrélation HMBC des protons à δ_H 3,86 avec le carbone résonnant à δ_C 163,2 a localisé un groupe méthoxy en C-4', conformément à l'état méthylé prédit de la partie aglycone de ce composé. Des signaux élargis d'échange à température ambiante sont souvent observés pour les C-glycosylflavones [21,22]. Ce phénomène est lié à la coexistence de deux rotamères autour de la liaison reliant C-6 au carbone anomérique de son sucre, en particulier dans les flavones 6-C-glycosylées présentant des substituants volumineux en C-7 ou C-8 [23]. Dans ce contexte, des acquisitions en RMN, à des températures plus élevées, sont effectuées à température variable (VT-RMN) pour améliorer la résolution spectrale et simplifier les modèles de signaux observés. Ainsi, les spectres de RMN acquis à 373 K ont affiché des signaux nets qui ont permis l'attribution complète des données de RMN ¹H et ¹³C liées aux résidus de sucre. Les séquences COSY et HSQC, en particulier, ont déterminé deux résidus de sucre dont xylopyranose et un glycopyranose, sur la base de leurs déplacements chimiques caractéristiques et de l'amplitude élevée de leurs constantes de couplage lisibles (**Tableau II**). Les sites de fixation des deux sucres ont pu être déterminés grâce aux corrélations hétéronucléaires à longue portée décrites dans la **Figure 3**. Ces corrélations HMBC ont confirmé la liaison du résidu xylose à C-6, en accord avec les données de spectrométrie de masse en tandem qui ont suggéré l'apparition d'un résidu pentosyle à cette position spécifique. Les corrélations NOESY observées entre les protons du résidu glycosyle et le proton aromatique H-2'/H-6' ont validé la localisation en C-8 de ce résidu (**Figure 3**). Au total, ces données spectroscopiques ont soutenu l'élucidation de **2** comme étant la 4'-OMéthylvicénine-

1 que nous avons nommée Anomalovicénine. La configuration absolue D de β -Glc et β -Xyl a été supposée être celle naturellement présente dans les C-glycosylflavones.

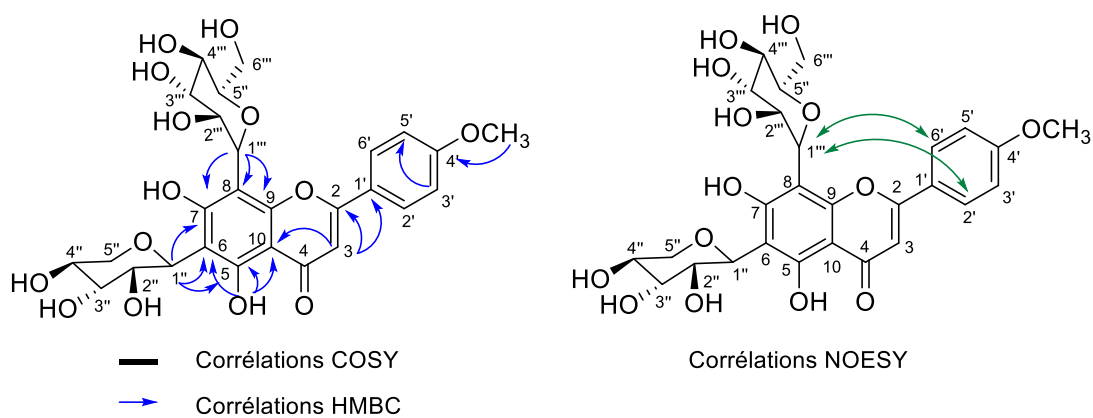


Figure 3 : Corrélations importantes observées en RMN 2D de **2**

Tableau II : RMN ^1H et ^{13}C dans le CD_3OD du composé **2** à 373 K

N°	^{13}C (δ , ppm)	^1H (δ , ppm), m (J, Hz)
2	163,2	
3	103,4	6,88, s
4	182,3	
5	159,1	
6	109,5	
7	160,9	
8	105,2	
9	155,1	
10	103,5	
1'	123,1	
2'	128,8	8,15, d (8,3) 8,07, d (8,3)
3'	114,5	7,13, d (8,3) 7,08, d (8,3)
4'	162,4	
5'	114,5	7,13, d (8,3)

		7,08, d (8,3)
6'	128,8	8,15, d (8,3)
		8,07, d (8,3)
1''	74,2	4,67, d (8,0)
2''	70,7	3,95, m
3''	79,7	3,24, t (8,2)
4''	70,4	3,50, m
5''	70,9	3,17, d (10,0)
		3,86, dd (10,0, 4,7)
1'''	74,3	4,95, d (8,0)
2'''	71,3	3,71, m
3'''	79,1	3,43, t (8,9)
4'''	71,5	3,51, m
5'''	163,2	3,44, m
6'''	103,4	3,66, m
		3,74, dd (11,5, 3,5)
4'-OCH ₃	55,2	3,87, s
5-OH	-	13,71, s

3.2. Activités biologiques des composés nouveaux

Certaines données ethnopharmacologiques sur l'utilisation des feuilles de *Erythrococca anomala* en tant qu'antiseptique [2,3], ainsi que l'activité antibactérienne documentée de certaines flavones [24,25], nous ont guidés à évaluer les activités antibactériennes de l'Anomaloflavone (**1**) et de l'Anomalovicénine (**2**) sur différentes bactéries. Les résultats montrent que l'Anomalovicénine est inactive sur toutes les bactéries testées (CI₅₀ > 173 µM) (**Tableau III**). L'Anomaloflavone par contre a montré une activité antibactérienne significative contre *Staphylococcus aureus*, une bactérie à Gram positif, et sur *Mycobacterium smegmatis*, avec une CMI de 41,1 µM, respectivement. Cependant, elle était inactive sur *Pseudomonas aeruginosa*, une bactérie à Gram négatif. Du fait que l'Anomaloflavone est bactéricide contre *S. aureus* (CMB = CMI) (**Tableau III**), il est tentant de déduire que l'Anomaloflavone n'est pas active contre *P. aeruginosa* (CMI > 165 µM) en raison de sa membrane externe hydrophobe. Néanmoins, comme l'Anomaloflavone inhibe également la croissance de *M. smegmatis*, malgré sa paroi cellulaire cireuse composée d'acides mycoliques, il ne peut être exclu que des cibles spécifiques puissent également manquer chez *P. aeruginosa*. Toutefois, malgré les potentialités de l'Anomaloflavone, ses actions antibactériennes restent largement inférieures à celles des témoins positifs que sont la vancomycine et la rifampicine (**Tableau III**). Cependant, il convient de noter que l'Anomaloflavone n'a révélé aucune cytotoxicité (CI₅₀ > 165 µM) vis-à-vis de la lignée cellulaire humaine SiHa comparativement au témoin positif utilisé dans cette étude, l'orlistat (CI₅₀ = 151,3 µM).

Tableau III : Activités biologiques en μM des composés **1** et **2** ainsi que des témoins positifs

Composés	<i>S. aureus</i>		<i>P. aeruginosa</i>		<i>M. smegmatis</i>		SiHa
	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CI ₅₀
1	41,1	41,1	> 165		41,1	41,1	> 165
2	> 173		> 173		> 173		
Vancomycine	0,7						
Cétrimide			0,3				
Rifampicine					0,12		
Orlistat							151,3

1. Conclusion

L'étude menée sur les feuilles de *Erythrococca anomala* a permis d'établir que la composition flavonoïdique de cet organe est essentiellement constituée de C-glycosylflavones. Six de ces flavones sont isolées au cours de ce travail parmi lesquelles deux sont de structure nouvelle ; il s'agit de l'Anomaloflavone (**1**) et de l'Anomalovicénine (**2**). L'Anomaloflavone s'est avérée être une flavone 6-C,O-diglycosylée alors que l'Anomalovicénine est caractérisée par deux résidus de sucre dont un 6-C-pentosyle et un 8-C-hexosyle. La fixation de ces résidus de sucre sur le squelette flavone a été possible grâce aux données de RMN mais aussi de MS² générées par la déréplication de C-glycosylflavones structurellement très proches. Ce travail qui est le premier rapport chimique sur une espèce du genre *Erythrococca* révèle que l'Anomaloflavone possède une activité antibactérienne significative contre *S. aureus* et *M. smegmatis* tout en échouant à exercer une activité cytotoxique contre la lignée cellulaire *SiHa*. Plus loin, toutes les molécules isolées, plus particulièrement l'Anomaloflavone, seront évaluées sur d'autres bactéries afin d'établir leur spectre antibactérien dans le cadre de leurs utilisations éventuelles comme agents antimicrobiens dans de nouveaux médicaments pour le traitement des maladies infectieuses causées par des agents pathogènes.

2. Références bibliographiques

- [1] Burkill H.M. The useful plants of west tropical Africa. Volume 2: Families EI. Royal Botanic Garden Kew (1994), 636.
- [2] Adjanohoun E.J., Ake-Assi L. Contribution au recensement des plantes médicinales de Côte d'Ivoire. Ed. Centre National de Floristique (CNF), Université Nationale de Côte d'Ivoire, Tome1 (1979), 23–30.
- [3] Miezian B.A.P., Koffi A.E., By P., Okpekon A.T., Yapi H.F. Study of the in vitro antibacterial activity of the aqueous and hydroethanolic extracts from the leaves of the *Erythrococca anomala* (Euphorbiaceae) on six bacterial strains. *Int. J. Biochem. Biophys.* (2017) 5(1), 19–25.
- [4] Koffi K.L., Bony F.N., Okpekon A.T., Ahui-Bitty M.L., N Guessan K.J., Séon-Méniel B., Le Pogam P., Amin N.C., Aké M. Champy P. Compounds with myorelaxant activity from the leaves of *Mareya micrantha* (Benth.) Müll. Arg. (Euphorbiaceae). *J. Pharmacogn. Phytochem.* (2020) 9(4), 48–59.
- [5] Okpekon T.A., Kabran F.A., Say V.M., Evanno L., Maciuk A., Loiseau P., Champy P., Figadère B. Apoprunelelactone (APL), an antiprotozoal lactone from the stem barks of *Isolona cooperi* Hutch. & Dalziel (Annonaceae). *Nat. Prod. Res.* (2021) 35(23), 5112–5119.
- [6] Chambers M.C., Maclean B., Burke R., Amodei D., Ruderman D.L., Neumann S., Gatto L., Fischer B., Pratt B., Egertson J., Hoff K., Kessner D., Tasman N., Shulman N., Frewen B., Baker T.A., Brusniak M.-Y., Paulse

- C., Creasy D., Flashner L., Kani K., Moulding C., Seymour S.L., Nuwaysir L.M., Lefebvre B., Kuhlmann F., Roark J., Rainer P., Detlev S., Hemenway T., Huhmer A., Langridge J., Connolly B., Chadick T., Holly K., Eckels J., Deutsch E.W., Moritz R.L., Katz J.E., Agus D.B., MacCoss M., Tabb D.L., Mallick P. A cross-platform toolkit for mass spectrometry and proteomics. *Nat. Biotechnol.* (2012) 30, 918–920.
- [7] Myers O.D., Sumner S.J., Li S., Barnes S., Du X. One step forward for reducing false positive and false negative compound identifications from mass spectrometry metabolomics data: new algorithms for constructing extracted ion chromatograms and detecting chromatographic peaks. *Anal. Chem.* (2017) 89, 8696–8703.
- [8] Shannon P., Markiel A., Ozier O., Baliga N.S., Wang J.T., Ramage D., Amin N., Schwikowski B., Ideker T. Cytoscape: A software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Res.* (2003) 13, 2498–2504.
- [9] Anonym. Determination of minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibacterial agents by broth dilution. *Clin. Microbiol. Infect.* (2003) 9(8), ix–xv.
- [10] Al-Fatlawi A.A., Al-Fatlawi A.A., Irshad Md., Rahisuddin, Ahmad A. Effect of parthenolide on growth and apoptosis regulatory genes of human cancer cell lines. *Pharm. Biol.* (2015) 53(1), 104–109.
- [11] Islam Md.N., Ishrat J.I., Hyun A.J., Jae S.C. Vicenin 2 isolated from *Artemisia capillaris* exhibited potent anti-glycation properties. *Food Chem. Toxicol.* (2014) 69, 55–62.
- [12] Choo C.Y., Sulong N.Y., Man F., Wong T.W. Vitexin and isovitexin from the leaves of *Ficus deltoidea* with in-vivo α -glucosidase inhibition. *J. Ethnopharmacol.* (2012) 142, 776–781.
- [13] Oelrichs P., Marshall J.T.B., Williams D.H. 7-O- β -D-glucosyl-8-C- β -Dglucosyl-4'-O-methylapigenin. A new flavone from *Trema aspera*. *J. Chem. Soc. C* (1968), 941–947.
- [14] Marston A., Hostettmann K., Jacot-Guillarmod A. Contribution à la phytochimie du genre *Gentiana*, XIX. Identification de nouveaux C-glucosides flavoniques dans *Gentiana pyrenaica* L. *Helv Chim Acta* (1976) 59, 2596–2600.
- [15] Agrawal P.K. Carbon-13 NMR of flavonoids. London, Elsevier, (1989).
- [16] Wawer I., Zielinska A. ¹³C CP/MAS NMR studies of flavonoids. *Magn. Reson. Chem.* (2001) 39, 374–380.
- [17] Xu K.-J., Xu X.-M., Deng W.-L., Zhang L., Wang M.-K., Ding L.-S. Three new flavone C-glycosides from the aerial parts of *Paraquilegia microphylla*. *Asian Nat. Prod. Res.* (2011) 13, 409–416.
- [18] Aquino R., Morelli S., Lauro M.R., Abdo S., Saija A., Tomaino A. Phenolic constituents and antioxidant activity of an extract of *Anthurium versicolor* leaves. *J. Nat. Prod.* (2001) 64, 1019–1023.
- [19] Markham K.R., Whitehouse L.A. Unique flavonoid glycosides from the new zealand white pine, *Dacrycarpus dacrydioides*. *Phytochemistry* (1984) 23, 1931–1936.
- [20] Cheng Y., Schneider B., Oberthür C., Graf H., Adler S., Hamburger M. Flavone C-glycosides from *Isatis tinctoria* leaves. *Heterocycles* (2005) 65, 1655–1661.
- [21] Lu Y., Yeap Foo L. Flavonoid and phenolic glycosides from *Salvia officinalis*. *Phytochemistry* (2000) 55, 263–267.
- [22] Xie C., Veitch N.C., Houghton P.J., Simmonds M.S.J. Flavone C-Glycosides from *Viola yedoensis* Makino. *Chem. Pharm. Bull.* (2003) 51, 1204–1207.
- [23] Zhou G., Yan R., Wang X., Li S., Lin J., Liu J., Zhao Z. The overlooked rotational isomerism of C-glycosyl flavonoids. *Phytochemistry Rev.* (2019) 18, 443–461.
- [24] Daglia M. Polyphenols as antimicrobial agents. *Curr. Opin Biotechnol.* (2012) 23, 174–181.
- [25] Barbieri R., Coppo E., Marchese A., Daglia M., Sobarzo-Sánchez E., Nabavi S.F. Phytochemicals for human disease: An update on plant derived compounds antibacterial activity. *Microbiol. Res.* (2017) 196, 44–68.

Activités antioxydante et antibactérienne des huiles essentielles de *Synedrella nodiflora* et de *Melanthera scandens* deux Asteraceae de la flore ivoirienne

KONAN N'dri Séraphin^{1*}, KOUAME Bosson Antoine² ; MAMYRBEKOVA-Békro² ; KONAN Koffi Marcel² et BEKRO Yves-Alain²

¹UFR sciences et Technologies, Université de Man, BP 20 Man, Côte d'Ivoire

²Laboratoire de Chimie bio-Organique et de Substances Naturelles (LCBOSN), UFR SFA, Université Nangui Abrogoua, Abidjan 02BP801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire

Résumé : Les limites de l'usage des antioxydants de synthèse et la recrudescence des résistances aux antibiotiques, incitent les scientifiques à rechercher de nouvelles molécules actives au nombre desquelles nous pouvons citer les HE. L'objectif général est une contribution à la valorisation de plantes médicinales de Côte d'Ivoire. Les objectifs spécifiques sont l'évaluation des activités antioxydante et antibactérienne des HE. L'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante a été réalisée à l'égard du radical DPPH[•] à 0,3 M, quand celle de l'activité antibactérienne a été réalisée sur 8 souches bactériennes par la méthode de diffusion en milieu solide. Les valeurs des CE₅₀ sont 25 µg/mL pour *S. nodiflora* et 32 µg/mL pour *M. scandens*. Les souches à Gram(-) ne sont pas sensibles aux extraits. Le rapport CMB/CMI est de 2 pour la gentamicine, 4 pour tous les extraits sur *S. aureus* méticilline résistant. Pour *S. aureus* CIP 483, le rapport est de 1 pour la gentamicine, 2 pour *M. scandens* et de 8 *S. nodiflora*. L'huile essentielle de *Melanthera scandens* a manifesté un potentiel antibactérien sur *Staphylococcus aureus* CIP 483. Nous prévoyons de préparer des médicaments traditionnels améliorés après une étude de toxicité.

Mots clés : Huiles essentielles, activité antioxydante, activité antibactérienne *Melanthera scandens*

Abstract

The limits of the use of synthetic antioxidants and the resurgence of resistance to antibiotics, encourage scientists to search for new active molecules among which we can mention essential oils. The general objective is to contribute to the promotion of medicinal plants from Côte d'Ivoire. Specific objectives: evaluation of the antioxidant and antibacterial activities of essential oils. The *in vitro* evaluation of the antioxidant activity was carried out with regard to the radical DPPH[•] at 0.3 M, when that of the antibacterial activity was carried out on 8 bacterial strains by the method of diffusion in a solid medium. The EC₅₀ values are: 25 µg/mL for *S. nodiflora* and 32 µg/mL for *M. scandens*. Gram (-) strains are not sensitive to extracts. The CMB/CMI ratio is 2 for gentamicin, 4 for all the extracts on methicillin-resistant *S. aureus*. For *S. aureus* CIP 483, the ratio is 1 for gentamicin, 2 for *M. scandens* and 8 for *S. nodiflora*. *Melanthera scandens* essential oil showed antibacterial potential on *Staphylococcus aureus* CIP 483. We plan to prepare improved traditional medicines after toxicity study.

Keywords : essential oil, antioxidant activity, antibacterial activity *Melanthera scandens*

1. Introduction

De l'antiquité à nos jours, les plantes médicinales et aromatiques ont joué un rôle crucial dans la prévention et/ou le traitement de différentes maladies humaines [1]. L'utilisation des plantes pour leurs propriétés médicinales est une pratique très ancienne. Elle trouve ses origines dans les plus anciennes civilisations et a été bien préservée au cours des siècles dans le monde entier. Au cours des deux dernières décennies, beaucoup d'attention a été accordée aux plantes en tant que nouveaux agents thérapeutiques alternatifs en raison de leurs composés naturels bioactifs [2]. Ainsi, la recherche de molécules nouvelles en tenant compte d'autres critères que l'efficacité, est devenue indispensable. La lutte biologique par l'utilisation de substances naturelles antioxydantes et antibactériennes pouvant constituer une alternative aux produits chimiques. Parmi ces substances naturelles figurent les huiles essentielles extraites des plantes aromatiques [3]

Notre intérêt s'est porté sur l'étude des activités antibactériennes et antioxydantes des huiles essentielles de deux plantes médicinales et aromatiques souvent utilisées en médecine traditionnelle et comme condiment alimentaire par la population locale en Côte d'Ivoire : *Melanthera scandens* et *Synedrella nodiflora*.

A notre connaissance, aucune étude des activités antioxydante et antibactérienne n'a été faite sur les huiles essentielles des trois espèces ivoiriennes. Cependant, des études ont été faites sur les extraits de celles-ci.

Dans la littérature, des études antérieures ont été faites sur l'extraction et la composition chimique des huiles essentielles des organes des deux plantes [4,5].

Des études de l'activité antioxydante ont été réalisées sur les extraits méthanoliques des feuilles séchées de l'espèce nigériane de *Melanthera scandens*. Il en ressort que ceux-ci possèdent des propriétés antioxydantes moins importantes que celles de la vitamine C [6]. Des études de l'activité antibactérienne et antioxydante ont été faites sur les extraits de *Synedrella nodiflora*. Il en ressort que l'extrait méthanolique des feuilles a une zone d'inhibition de 14 mm contre *Bacillus cerus* [7]. Les capacités antioxydantes de l'extrait méthanolique et des fractions solubles ont été testés à l'aide de DPPH et du BHT. Les concentrations inhibitrices à 50% (CI₅₀) en µg/mL des fractions et des extraits varient entre 10,52 et 31,25 quand celle de l'acide ascorbique et du BHT sont respectivement de 5,8±0,21 et de 27,5±0,54. La fraction soluble du dichloro méthane a une bonne activité antioxydante. Son CI₅₀ est de 10,52 µg/mL [8].

C'est pourquoi, dans ce travail, en vue de contribuer à une valorisation des plantes aromatiques et médicinales de la Côte d'Ivoire, nous nous proposons d'évaluer par spectrophotométrie l'activité antioxydante des huiles essentielles vis-à-vis du DPPH et leur activité antibactérienne.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel.

Le matériel végétal est constitué des HE extraites des trois plantes.

Les souches Bactériennes.

Huit (08 souches) bactériennes ont été utilisées. Pour la plupart, ce sont des souches de référence issues du laboratoire du Centre suisse de recherche Scientifique (CSRS) avec les dénominations ATCC et SO. D'autres souches par contre, sont des souches cliniques provenant de l'institut pasteur avec la dénomination CIP. Ainsi, les tests antibactériens ont été réalisés sur les souches suivantes :

GRAM(-) : *Escherichia coli* ATCC 25922; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853; *Salmonella typhimurium* SO66 ; *Proteus mirabilis* ATCC 14153 et *Proteus vulgaris* CIP 5860

GRAM (+) : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ; *Staphylococcus aureus* CIP 483 et *Staphylococcus aureus* meticiline résistant ATCC 43300

2.2. Méthode

2.2.1. Evaluation de l'activité antioxydante.

Le DPPH• est solubilisé dans de l'éthanol absolu pour avoir une solution de 0,3 mg/mL (soit 0,03 g dans 100 mL d'éthanol). Les concentrations des différents extraits d'HE en mg/mL sont: 2 ; 1; 0,5 ; 0,25 ; 0,125 ; 0,02 et 0,002. Dans les tubes à hémolyse secs et stériles, on introduit 5 mL de solution d'extrait à tester et 2 mL de la solution éthanolique de DPPH•. Après agitation, les tubes sont incubés pendant 30 min à l'abri de la lumière, puis l'absorbance du mélange est mesurée à 517 nm. L'absorbance, du blanc formé par 5 mL d'éthanol pur et de 2 mL de solution de DPPH•, est mesurée dans les mêmes conditions. Le témoin positif est constitué d'une solution éthanolique d'acide ascorbique. Son absorbance est mesurée dans les mêmes conditions. Le DPPH• absorbe à 517 nm (longueur d'onde maximale). Les différentes absorbances mesurées sont traduites en pourcentage d'inhibition par la formule suivante [9].

$$\%I = \left(1 - \frac{\text{Abstest}}{\text{AbsDPPH}\bullet}\right) \times 100$$

Abs DPPH• : absorbance du blanc (solution éthanolique de DPPH•), Abs test : absorbance de l'extrait d'HE.

Avant chaque mesure, l'absorbance du blanc est mesurée. Pour chaque extrait présentant un potentiel antioxydant, la CE₅₀ (concentration efficace du substrat qui inhibe de 50% le potentiel oxydant du DPPH•) est déterminée graphiquement [10]

2.2.2 Evaluation de l'activité antibactérienne des HE.

2.2.2.1. Mesure des diamètres des zones d'inhibition.

L'activité antibactérienne des différentes huiles à différentes concentrations a été déterminée pour chaque souche bactérienne, par la technique de macro-dilution en milieu solide (diffusion en puits) [11] à partir d'une culture de 18 à 20 h (10⁵-10⁶ UFC/mL). L'ensemencement de l'inoculum de 1 mL est réalisé en surface du milieu Mueller Hinton (MH) préalablement coulé dans des boîtes de Pétri. Après 15 min, des puits de 6 mm de diamètre ont été découpés à l'aide de pipettes Pasteur. Le fond des puits

est obstrué par une goutte de gélose MH pour limiter la diffusion des huiles sous la gélose. Ensuite, 50 μL de l'huile à différentes concentrations et 50 μL d'une référence la gentamycine sont distribuées dans chaque puits. Après diffusion, les cultures sont incubées dans des étuves à 37°C pendant 24 h. Les auréoles d'inhibition sont mesurées par un pied à coulisse. L'activité est considérée nulle pour un diamètre d'inhibition (d.i.) inférieur ou égale à 8 mm ; faible pour d.i. compris entre 8 et 14 mm, moyenne pour d.i. compris entre 14 et 20 mm; forte pour d.i. supérieur ou égal à 20 mm [11].

2.2.2.2 . Détermination de CMI et CMB

Pour la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI), une série de 10 tubes à hémolyse stériles est utilisée. A l'aide d'une pipette graduée stérile, sont introduits 4,6 mL du bouillon MH-tween 80 dans le premier tube et 2,5 mL du même bouillon dans les autres tubes.

Quatre cents (400) μL de l'HE à tester sont prélevés et mis dans le premier tube stérile contenant 4,6 mL de milieu BM-H, supplémenté en Tween 80 (0,01 %, v/v). Le tube est homogénéisé au vortex. Ensuite, une série de dilution en progression géométrique est effectuée dans du milieu bouillon Mueller-Hinton (BMH)-Tween 80 (0,01 %, v/v), de manière à obtenir une gamme de concentrations comprise entre 80 et 0,3 mg/mL. Enfin 13 μL d'un inoculum bactérien, de densité équivalente au standard 0,5 de Mac Farland (10^8 UFC. mL^{-1}), sont déposés dans chacun des tubes de la gamme de dilutions, lesquels sont ensuite placés à 37°C sous agitation pendant 24 h. Un témoin de la croissance bactérienne pour lequel 13 μL de l'inoculum standardisé ont été déposés dans du milieu BMH-Tween 80 (0,01 %, v/v), est également réalisé. La CMI est la plus petite concentration en extrait capable d'inhiber la croissance bactérienne. Plus elle est petite, plus l'extrait est efficace [12].

La Concentration minimale bactéricide (CMB) correspond à la plus faible concentration capable de tuer 99,99% de l'inoculum initial. La même gamme de concentrations est utilisée. Des prélèvements sont effectués dans le tube témoin et dans chacun des tubes dépourvus de culot bactérien puis déposés en «strie » sur gélose Mueller-Hinton agar (MHA) Les boîtes ensemencées sont incubées 24h à 37°C [12].

Les rapports CMB/CMI ont été calculés. Lorsque ce rapport est inférieur à 4, l'extrait est considéré comme bactéricide. Lorsqu'il est égal à 4, l'extrait est considéré comme bactériostatique [12].

3. Résultats et discussion

3-1- Résultats de l'activité antioxydante

Ces résultats (Figure 1), montrent que les HE extraites présentent une activité antioxydante relativement faible par rapport à la vitamine C ; Ce qui est prouvé par la détermination des CE_{50} (Figure2). En effet, la CE_{50} se définit comme étant la concentration du substrat qui engendre la perte de 50% de l'activité du DPPH• [10]. Plus cette concentration est petite et plus l'extrait est efficace.

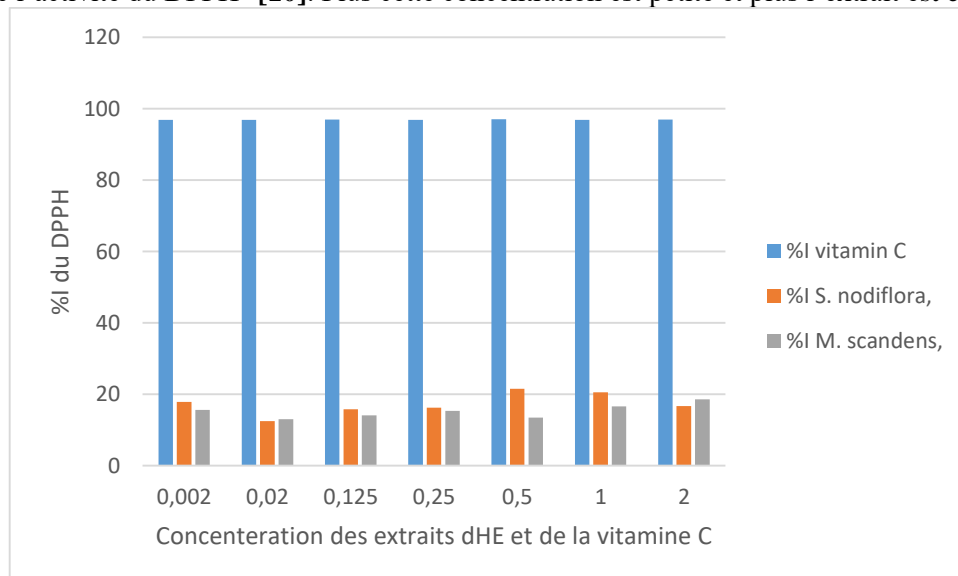
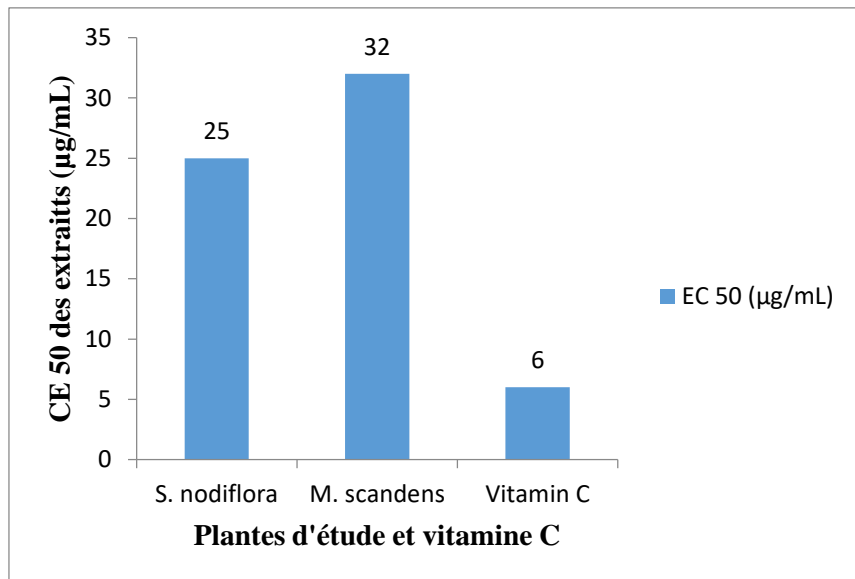


Figure 1 : Inhibition du DPPH• en fonction de la concentration des HE et de la vitamine C

Les HE possèdent une capacité de réduction du radical libre. Les concentrations requises pour la neutralisation du DPPH• varient entre 25 et 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Figure 2).



CE₅₀ : concentration efficace du substrat

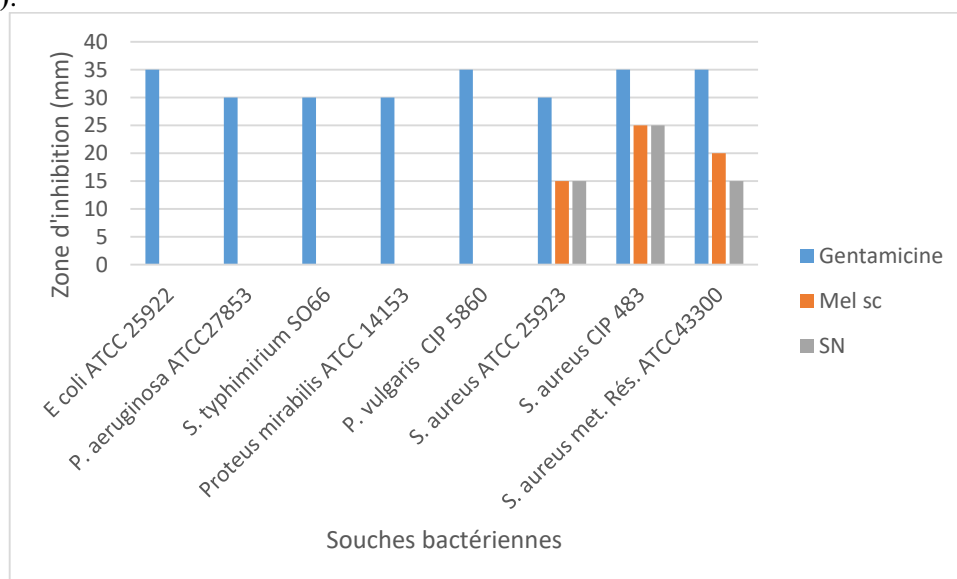
Figure 2 : CE₅₀ des HE des plantes d'étude et de la vitamine C

La CE₅₀ de l'extrait de *S nodiflora* est plus petite que celle de *M. scandens*. Par conséquent, l'activité antioxydante de l'HE de *S nodiflora* est plus efficace que celle de l'HE de *M. scandens*. Les valeurs des CE₅₀ montrent que l'HE de *S nodiflora* est plus antiradicalaire que celle de *M. scandens*. Par ailleurs, la CE₅₀ des HE extraites a été comparée à celle de la vitamine C (6 µg/mL) déterminée par N'gaman [13] car la CE₅₀ de la vitamine C n'a pas pu être déterminée pour la présente étude. Elle est quatre fois plus petite que celle de *Synedrella nodiflora* et cinq fois plus petite que celle de *M. scandens*. Il en découle que l'acide ascorbique (vitamine C) est quatre fois plus antiradicalaire que l'HE de *S. nodiflora* et six fois plus antioxydante que l'extrait de *M. scandens*.

La relative activité antioxydante des HE pourrait justifier l'utilisation des plantes à partir desquelles elles sont issues en thérapie traditionnelle. Cette activité antioxydante est liée à la présence de terpènes car ils sont dotés de pouvoir antioxydant.

3-2-Résultats de l'activité antibactérienne.

Le criblage antibactérien a été effectué. Les diamètres des zones d'inhibition sont mis en évidence (Figure 3).



Gentam : Gentamicine ; Mel sc : Extrait d'HE de *M. scandens* ; SN : Extrait d'HE de *S. nodiflora*

Figure 3 : Zones d'inhibition des bactéries par les HE et la gentamicine à 1 mg/mL

Ces résultats, montrent que toutes les bactéries à Gram (-) ne sont sensibles aux extraits d'HE testées car il n'y a aucune zone d'inhibition des microorganismes. Cependant, la gentamicine a une forte action inhibitrice sur la croissance de toutes les souches testées ($d > 20$ mm). Les extraits d'HE sont actifs sur *S. aureus* CIP 483 et *S. aureus* méticiline résistant ATCC 43300, bien qu'il soit résistant à la méticiline. Les diamètres des zones d'inhibition sont de 25 mm. Il en découle que les extraits d'HE ont des activités remarquables sur ces bactéries. Il faut noter que pour la concentration de 1 mg/mL, Les HE ont une forte activité sur *S. aureus* CIP 483 ($d = 25$ mm) et une faible activité sur *S. Aureus* ATCC 25923. Le diamètre des zones d'inhibition est de 15 mm contre 30 mm pour l'antibiotique de référence. Donc ces HE ont une activité moyenne contre *S. aureus* ATCC 25923 ($14 < d < 20$ mm). La comparaison de la composition chimique des différents extraits d'HE, montre de faibles quantités de monoterpènes oxygénés dans les extraits de *M. Scandens* (0,58%) et de *S. nodiflora* (0,5%). L'activité antibactérienne pourrait également dépendre du pourcentage des constituants majoritaires.

Toutes les souches bactériennes à Gram (-) ne sont pas sensibles aux extraits d'huiles essentielles. Cela serait dû à la structure de leur membrane extérieure. En effet, la membrane extérieure des bactéries à Gram (-) est plus riche en lipopolysaccharide. Elle rend la bactérie plus hydrophile, ce qui empêche les terpènes hydrophobes d'y adhérer [14].

Les résultats, des CMI et CMB déterminées et des rapports CMB/CMI calculés des HE extraites et de la gentamicine sur les souches *S. aureus* CIP 483 et *S. aureus* méticiline résistant ATCC 43300, sont consignés dans le **Tableau1**

Tableau1 : CMI, CMB et rapports CMB/CMI des extraits d'HE et de la gentamicine
Souche *S. aureus* méticiline résistant *S. aureus* CIP 483

Souche	CMI mg/mL	CMB mg/mL	CMB/CMI	CMI mg/mL	CMB mg/mL	CMB/MC
Mel sc	2.5	10	4	10	20	2
SN	5	20	4	10	80	8
Gentamicine	0,005	0,01	2	0,0025	0,0025	1

CMI : Concentration minimale inhibitrice ; CMB : Concentration minimale bactéricide ; Mel sc : Extrait d'HE de *M. scandens* ; SN : Extrait d'HE de *S. nodiflora*

Les extraits d'HE ont un effet bactériostatique sur la souche *Staphylococcus aureus* méticiline résistante (CMB/CMI = 4) tandis que l'extrait de *Melanthera scandens* a un effet bactéricide (CMB/CMI = 2) sur la souche de *S. aureus* CIP 483. Cette activité est semblable à celle de la gentamicine sur la souche résistante.

Ces résultats expliqueraient l'utilisation des feuilles de *M. scandens* dans la médecine traditionnelle pour soigner certaines pathologies telles que le paludisme [15], les diarrhées, la dysenterie, autres maladies gastro-intestinales [16] et des maladies causées par les champignons [17]. Bien qu'il n'existe pas dans la littérature des études sur l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Melanthera scandens*, le profil des composés volatils qu'il contient, selon des travaux variés, confirme l'activité qu'elle peut exercer.

En effet, selon Ultee et coll., Mustafa et coll., l'activité antibactérienne des HE est principalement liée à la nature de leurs composés majoritaires [18, 19]. Mais selon Delaquis et collaborateurs [20], l'activité antimicrobienne de certaines HE pourrait être due à la présence de composants minoritaires. Ces composés pourraient exhiber une activité antibactérienne par des phénomènes de synergie entre les différents constituants, beaucoup plus prononcée que celle prévisible des constituants majoritaires. Ainsi, les effets antibactériens des HE pourraient être expliqués principalement par la présence de terpènes (monoterpènes et sesquiterpènes) et des composés phénoliques. En effet, les hydroxydes des composés phénoliques sont capables de se lier aux sites actifs des enzymes cibles par des liaisons hydrogènes. La présence d'alcools sesquiterpéniques dans l'HE de *M. scandens* pourrait également expliquer cette activité. Les alcools terpéniques sont connus pour leur pouvoir antimicrobien dû à leur solubilité dans l'eau ; ce qui leur confère une habilité à pénétrer les cellules bactériennes [21]. L'activité

potentielle antibactérienne de l'huile essentielle de *Melanthera scandens*, manifestement, semblerait être liée à la présence de métabolites secondaires [22-24].

Les staphylocoques sont connus pour leur implication dans la contamination des aliments et comme agents causant de nombreuses pathologies. Leur antibio-résistance est également connue. Il apparaît donc impérieux de trouver des antibiotiques alternatifs qui pourraient non seulement être utilisés pour éradiquer certaines pathologies mais également comme agents de conservation de certains aliments tels que les jus et les yaourts [25]. L'HE des organes de *M. scandens* pourrait également être utilisé comme une alternative pour réduire ces risques de contamination alimentaire.

4. Conclusion

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à la valorisation de deux plantes aromatiques et médicinales de la flore ivoirienne.

Cette étude a montré que les HE possèdent une faible capacité de réduction du radical libre. Cette activité serait due à la présence des terpènes. Elle a également montré le pouvoir antibactérien des HE des deux plantes mais particulièrement de celle de *Melanthera scandens*. Cette activité serait liée à la présence des composés oxygénés. Elle pourrait être due à la présence des composés majoritaires, mais également des composés minoritaires qui agissent par des phénomènes de synergie. Il serait souhaitable de faire une étude de toxicité avant de vulgariser son emploi.

Références bibliographiques

- [1] Erdem, S. A. ; Nabavi, S. F. ; Orhan, I. E. ; Daglia, M. ; Izadi, M. ; Nabavi, S. M. ; DARU, J. Phytochemical problems. Pharm. Sci. (2015) ; pp.23, 53.
- [2] Bouasla, A; Bouasla, I. Ethnobotanical survey of medicinal plants in northeastern of Algéria, Phytomedicine. (2017) 36; pp. 68–81
- [3] LAIB, I. Etude des activités antioxydante et antifongique de l'HE des fleurs de *Lavandula officinalis* : application aux moisissures des légumes secs. Revue Nature et technologies. (2012) 07 ; pp. 44-52.
- [4] Konan N. S. ; Kouamé B. A ; Mamyrbékova-Békro J. A. ; Konan K. M. et Békro, Y-A. Composition chimique par GC/MS des huiles essentielles extraites des feuilles de *Mikania cordata* (Burm.f.) B.L. Robinson et de *Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn. Bulletin de la société Royale des sciences de Liège. (2011) 80 ; pp. 846-853
- [5] Konan, N. S. ; Kouamé, B. A. ; Mamyrbékova-Békro, J.A. ; Konan, K. M. et Békro, Y-A. Analyse organique GC/MS de l'huile essentielle de *Melanthera scandens* récolté à Azaguié en Côte d'Ivoire. International Journal of Innovation and Applied Studies. (2016) 17; pp. 231-235.
- [6] Adesegun, A. S.; Alabi O. S.; Olabanji, P. T.; Coker, H. A. B. Evaluation of antioxidant potential of *Melanthera scandens*, J. Acupunct. Meridian Stud. (2010) 3 (4); pp. 267-271.
- [7] Sharmin, R. C.; Shahana, A.; Tasnuva, S.; Farhana, I.; Tasdique, M. Q. Antimicrobial activity of the medicinal plants of Bangladesh. Journal of pharmacognosy and phytochemistry. (2013) 2 (1); pp 164-170.
- [8] Mycal, D.; Aninda, K. N.; Zia, U.; Akbar H. K. In vitro Antioxidant, total phénolic content and Brine Shrimp lethality studies of *S.nodiflora*. International Journal Pharmaceutical Sciences and Research, (2012) 3 (5). pp. 1528-1531.
- [9] Mohammedi, Z. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen, Thèse en en biologie, Université Abou Bakr Belkaïd (République Algérienne démocratique et populaire).(2006).
- [10] Molyneux, P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for the antioxidant activity. Song Kla nakarin J. Sci Technology. (2004) 26 (2); pp 211-219.
- [11] Berghe, J.; Vlietinck, A. An Screening Methods for antibacterial and antiviral agents from higher plants Method for Plant. Biochemistry.(1991) 6; pp. 47-68.
- [12] Elodie, G. Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action, Thèse de Doctorat de l'Université de Corse en Biochimie. (2010).
- [13] N'Gaman, K. C. Etude phytochimique et effet d'extraits de *Gmelina arborea* Roxb. (Verbenaceae) de Côte d'Ivoire sur la stabilité osmotique d'érythrocytes, Thèse de Doctorat de l'UFR-SFA de l'Université Nangui Abrogoua. (2013).
- [14] Christiani, M.; Darrigo, M.; Mandalari, G.; Castelli, F.; Sarpietro, M. G.; Micieli, D. Interaction of four monoterpenes contained in essentials oils with model membrane: Implication for their antibacterial activity. Journal of Agricultural and food Chemistry. (2007) 55; pp. 6300-6308.
- [15] Zirih, G. N.; Kouakou, N.; Etien T. D.; Gellier, P. Ethno-pharmacological study of plants used to treat malaria, in traditional medicine, by Bete Populations of Issia (Côte d'Ivoire). Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. (2010) 2(4); pp. 216-217.
- [16] Gek, B.; Beugre, I.; Ouattara, K.; Djaman, A. J. Evaluation of the antibacterial activity of 14 medicinal plants in Côte d'Ivoire, Tropical Journal of Pharmaceutical Research. (2011) 10 (3); pp. 335-340.
- [17] Fagbohun, E. D.; Lawal, O.U.; Ore, M.E. The antifungal activities of the méthanolique crude extract of the leaves of *Ocimum gratissimum* L., *Melanthera scandens*, and *Leea guineensis* L, on some phytopathogenic fungi. International Journal of Biology, Pharmacy and Allied Sciences. (2012) 1(1); pp. 12-21.

Développement d'une Nouvelle Méthodologie de Cyclopropanation Arylante

COULIBALI Siomenan^{1*}, CAMARA Tchambaga Etienne, CANESI Sylvain²

1.

2. *Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière, UFR Sciences des Structures de la Matière et Technologie, Université Félix Houphouët Boigny de Cocody, 22 BP582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.*

3. *Laboratoire de Méthodologie et synthèse de produits naturels, Université de Québec à Montréal, C.P. 8888, Succ. Centre-ville, Montréal, H3C 3P8, Québec Canada*

Résumé : La cyclopropanation est un processus important en synthèse, produisant des structures cycliques à trois chaînons qui sont utilisés comme précurseurs pour l'élaboration d'intermédiaires réactionnels. Les cyclopropanes sont formés dans plusieurs processus comme la méthode de Simmons–Smith ou ses variantes par des composés diazoïques, des ylures d'iodonium de Corey-Chaykovsky ou des transformations de Kulinkovich. L'objectif de ce travail est de conceptualiser une nouvelle méthodologie de cyclopropanation arylative stéréosélective. Cette nouvelle méthode a été développée par la réaction de Michael–Smiles en traitant des diénones possédant quelque fois des halogènes en position ortho en présence de donneurs de Michael contenant une nitroaryl-sulfone. Avec les diénones halogénés, nous avons obtenu les cyclopropanes avec des rendements compris entre 50 et 74%. La version asymétrique a été réalisée avec un rendement de 45%. Nous avons également pu accéder aux cyclopropanes par réaction radicalaire avec des rendements compris entre 53 et 58%. Ces synthèses ont été réalisées dans les conditions légèrement basiques à des températures modérées avec le dioxyde de soufre comme seul sous-produit. Une bonne diastéréosélectivité a été observée même lors de la formation des cyclopropanes fortement substitués. Nous comptons utiliser cette méthode pour élaborer des molécules naturelles comportant des cyclopropanes.

Mots clés : Cyclopropane, arylative, Michael-Smiles, Ylures

Abstract : Cyclopropanation is an important process in synthesis, producing three-membered ring structures that are used as precursors for the elaboration of reaction intermediates. Cyclopropanes are formed in several processes like the Simmons-Smith method or its variants by diazo compounds, iodonium ylides from Corey-Chaykovsky or Kulinkovich transformations. The objective of this work is to conceptualize a new stereoselective arylative cyclopropanation methodology. This new method was developed by the Michael-Smiles reaction by treating dienones sometimes having halogens in the ortho position in the presence of Michael donors containing a nitroaryl-sulfone. With halogenated dienones, we obtained cyclopropanes with yields between 50 and 74%. The asymmetrical version was made with a yield of 45%. We were also able to access cyclopropanes by radical reaction with yields of between 53 and 58%. These syntheses were performed under mildly basic conditions at moderate temperatures with sulfur dioxide as the only by-product. Good diastereoselectivity was observed even when forming highly substituted cyclopropanes. We intend to use this method to develop natural molecules containing cyclopropanes.

Keywords : Cyclopropane, arylative, Michael-Smiles, Ylures

1. Introduction

La cyclopropanation est un processus important en synthèse organique, aboutissant aux structures cycliques à trois chaînons utilisées comme précurseurs pour l'élaboration d'intermédiaires réactionnels. Plusieurs méthodes de cyclopropanation sont décrites telles que la méthode de Simmons–Smith [1] ou ses variantes médiées par des composés diazoïques ou des ylures d'iodonium [2], les transformations de Corey-Chaykovsky [3] ou de Kulinkovich [4] ou d'alkylation intramoléculaire [5]. De nos jours, les défis environnementaux actuels imposent le fait que les transformations doivent être économiques en atome et respecter le concept de "chimie verte" [6]. L'objectif de ce travail est de mettre au point une nouvelle méthodologie stéréosélective de cyclopropanation arylative respectant les principes de la chimie verte. Cette nouvelle méthode a été développée par application de la réaction de Michael–Smiles [7] en traitant des diénones possédant quelque fois des halogènes en position ortho en présence de donneurs de Michael contenant une nitroaryl-sulfone. Ces synthèses ont été réalisées dans les conditions légèrement basiques à des températures modérées et une bonne diastéréosélectivité a été observée même lors de la formation des cyclopropanes fortement substitués.

2. Matériels et méthodes

2.1. Matériels

Les spectres de résonance magnétique nucléaire du proton (RMN ¹H) et du carbone (¹³C) ont été enregistrés respectivement à 300 et 75 MHz, dans des solutions de CDCl₃. Les déplacements chimiques

sont indiqués en ppm sur l'échelle δ . Les multiplicités sont décrites comme s (singlet), d (doublet), dd, ddd, etc. (doublet de doublets, doublet de doublets de doublets, etc.), t (triplet), q (quartet), p (pentuplet), m (multiplet), et qualifiées de app (apparent) br (large) c (complexe). Les constantes de couplage, J, sont indiquées en Hz. Les spectres IR (cm⁻¹) ont été enregistrés à partir de films minces. Les spectres de masse (m/e) ont été mesurés en mode électrospray (ESI).

2.2 Méthodes

2.2.1. Procédure générale d'obtention des diénones dans l'iode hypervalent

2 mmol (2 équiv.) du DIB a été ajouté à une solution vigoureusement agitée de sulfonamide (1 mmol, 1 équiv.) dans 5 mL de méthanol à 0 °C. Le mélange a ensuite été agité pendant 5 min (suivi d'une CCM avec un mélange d'éthylacétate/hexane) puis concentrée sous vide. Le résidu a été purifié par chromatographie sur gel de silice avec un mélange d'éthylacétate/hexane pour donner le produit 3.

2.2.2. Procédure générale : Procédé de Michael-Smile-cyclopropanation

A une solution de diénone (1,0 équiv, 0,51 mmol) dans l'acétonitrile (3,0 mL), est ajouté l'acétate de méthyle 2-(2-nitrophénylsulfonyle) (2 équiv, 1,02 mmol) et le carbonate de césium (3,0 équiv, 1,53 mmol). La solution est ensuite agitée à 82°C pendant 3 à 12 heures. A la fin de la réaction, la solution est filtrée à travers un tampon de gel de silice et concentrée sous vide. Le résidu obtenu est ensuite purifié par chromatographie sur gel de silice avec un mélange acétate d'éthyle/hexane pour donner les composés correspondants.

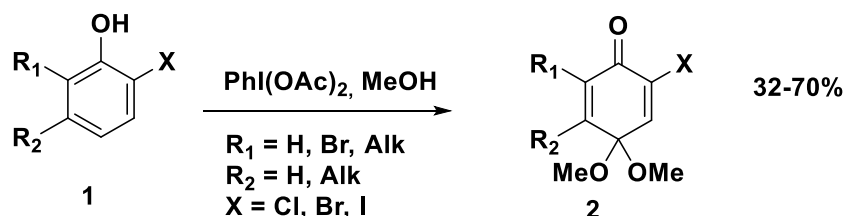
2.2.3. Méthode générale de synthèse de cyclopropane par un processus radicalaire

A une solution de diénone (1,0 équiv, 0,2 mmol) dans de l'acétonitrile (6,0 mL), est ajouté l'acétate de méthyle 2-(2-nitrophénylsulfonyle) (2 équiv, 0,4 mmol) et le carbonate de césium (3,0 équiv, 0,6 mmol). La solution a été agitée à 82°C pendant 12 heures sous une atmosphère d'oxygène. A la fin de la réaction, le mélange réactionnel est versé dans l'eau et extrait avec l'acétate d'éthyle (3 x 50 mL). La phase organique est séparée, séchée avec Na₂SO₄ et concentrée sous pression réduite. Le résidu est ensuite purifié par chromatographie sur gel de silice avec un mélange acétate d'éthyle/hexane pour donner le cyclopropane correspondant.

4. Résultats et discussion

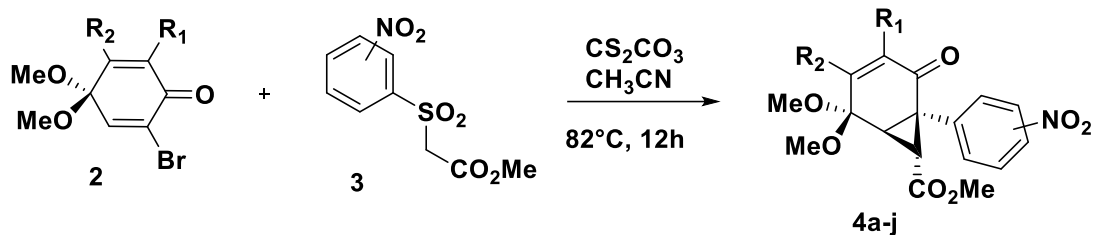
3.1. Synthèse des accepteurs de Michael : Oxydation dans l'iode hypervalent

Les diénones ont été obtenus par activation grâce à un réactif à base d'iode hypervalent, comme le DIB (Schéma 1), dans le méthanol utilisé comme solvant et nucléophile. Ces conditions ont été développées par le Pr. Kita au Japon. C'est un procédé de transferts d'électrons célibataires, c'est à dire que l'atome d'iode va consécutivement prendre deux électrons à l'oxygène du phénol. Il en résulte donc la formation d'une charge positive sur l'oxygène. Ce dernier, étant électroattracteur, ne va pas supporter l'apparition de cette charge, et va la délocaliser dans le cycle, en position para, conduisant à l'obtention d'un ion phénoxonium. Il va s'en suivre une réaction de substitution nucléophile dans laquelle le méthanol va se substituer en position para pour former la diénone. Ainsi, nous avons obtenu la diénone 2 par oxydation des phénols halogénés 1 en présence de méthanol et d'un réactif iode hypervalent. L'iode et le brome ont donné des résultats légèrement améliorés.



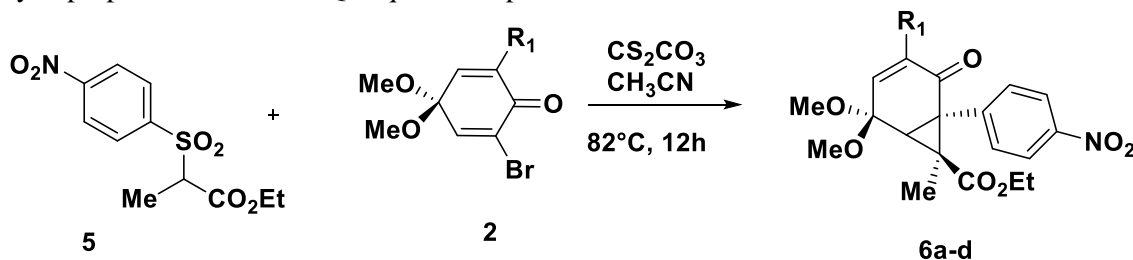
3.2. Synthèse des cyclopropanes : Procédé de Michael-Smile

Les dérivés ortho- et para-nosylés 3 réagissent avec les diénones en présence de carbonate de césium dans l'acétonitrile pour donner différents cyclopropanes avec des rendements moyens. Un aspect intéressant de ce procédé est la bonne stéréosélectivité observée, avec un seul diastéréoisomère observé dans les spectres RMN ¹³C Les composés correspondants 4 obtenus sont décrits dans le Tableau 1



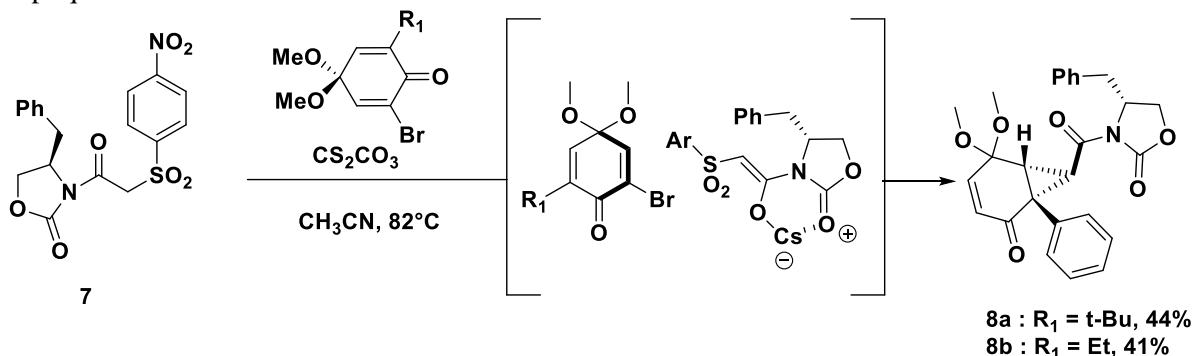
Entrées	NO ₂	R ₁	R ₂	Rdts (%)
4a	ortho	Me	Me	64
4b	para	Me	Me	68
4c	ortho	Et	H	61
4d	para	Me	H	70
4e	ortho	t-Bu	H	74
4f	para	t-Bu	H	73
4g	ortho	Me	H	63
4h	para	allyl	H	70
4i	para	Br	H	50
4j	para	Et	H	71

Afin de produire une sous-unité cyclopropane hautement substituée, la réaction a été étendue au composé 10, un dérivé méthylique de 7. Un seul diastéréoisomère a été observé par RMN ¹³C le cyclopropane substitué 12. Quelques exemples sont décrits dans le tableau 2.



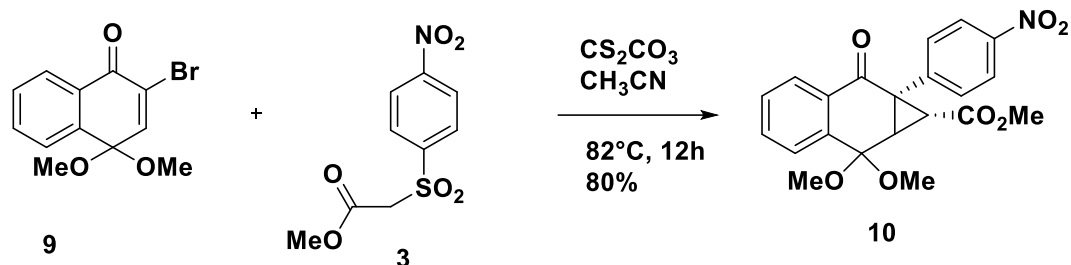
Entrées	R ₁	Rdts
6a	t-Bu	67
6b	allyl	61
6c	Et	60
6d	Me	49

Une variante asymétrique contenant un auxiliaire Evans [8] a été mise au point, et les cyclopropanes 15 correspondants ont été obtenus avec des rendements de 41 % et 44 % et une excellente stéréosélectivité de 95 % d'après la RMN ¹³C. Une approche potentielle suggérant un état de transition ouvert pour expliquer la stéréosélectivité observée est décrite dans le schéma



3.3. Synthèse de cyclopropane par un processus radicalaire

Au cours de nos différents essais, nous avons observé que la réaction entre l'énone **9** et le nitroaryl-sulfone **3** entraîne la formation d'un cyclopropanique intéressant **10** avec une très bonne diastéréosélectivité.



Le rendement de cette réaction augmente en présence d'oxygène et diminue en présence de TEMPO, ce qui suggère qu'un processus radicalaire via un transfert d'électrons médié par l'oxygène est responsable. Le composé **10** est un polyfonctionnel obtenu de manière diastéréosélective en une étape à partir de réactifs simples. Cependant, nous n'avons pas été en mesure d'étendre cette méthode à d'autres substrats. Nous avons donc étudié des méthodes alternatives pour générer cet échafaudage de cyclopropane, en commençant par l'introduction d'un brome en α sur la partie énone afin de remplacer l'étape incertaine de cyclopropanation oxydative par une alkylation intramoléculaire. Nous avons été heureux d'observer que le cyclopropane **10** a été obtenu avec un rendement de 80 % par cette stratégie.

4. Conclusion

En résumé, nous avons développé une nouvelle transformation arylative stéréosélective de cyclopropanation médiée par un processus en cascade de fermeture de cycle de Michael-Smiles. Ces méthodes se déroulent dans des conditions légèrement basiques à des températures modérées avec du dioxyde de soufre comme seul sous-produit. Une très bonne diastéréosélectivité est observée au cours de cette transformation multi-étapes, même lors de la formation de fragments de cyclopropane hautement substitués.

5. Bibliographie

- [1] (a) Simmons, H. E.; Smith, R. D. *J. Am. Chem. Soc.* 1958, 80, n5323. (b) Simmons, H. E.; Smith, R. D. *J. Am. Chem. Soc.* 1959, 81, 4256. (c) Charette, A. B.; Beauchemin, A. *Org. React.* 2001, 58, 1. (d) Hoveyda, A. H.; Evans, D. A.; Fu, G. C. *Chem. Rev.* 1993, 93, 1307. (e) Pellissier, H. *Tetrahedron* 2008, 64, 7041. (f) Lebel, H.; Marcoux, J. F.; Molinaro, C.; Charette, A. B. *Chem. Rev.* 2003, 103, 977. (g) Furukawa, J.; Kawabata, N. *Adv. Organomet. Chem.* 1974, 12, 83.
- [2] (a) Doyle, M. P.; McKervey, M. A.; Ye, T. *Modern Catalytic Methods for Organic Synthesis with Diazo Compounds: From Cyclopropanes to Ylides*; Wiley: New York, 1998. (b) Moreau, B.; Charette, A. B. *J. Am. Chem. Soc.* 2005, 127, 18014. (c) Marcoux, D.; Goudreau, S. R.; Charette, A. B. *J. Org. Chem.* 2009, 74, 8939. (d) Nani, R. R.; Reisman, S. E. *J. Am. Chem. Soc.* 2013, 135, 7304. (e) Deng, C.; Wang, L.; Zhu, J.; Tang, Y. *Angew. Chem., Int. Ed.* 2012, 51, 11620. (f) Lindsay, V. N. G.; Fiset, D.; Gritsch, P. J.; Azzi, S.; Charette, A. B. *J. Am. Chem. Soc.* 2013, 135, 1463. (g) Lindsay, V. N. G.; Fiset, D.; Gritsch, P. J.; Azzi, S.; Charette, A. B. *J. Am. Chem. Soc.* 2013, 135, 1463. (h) Duan, Y. N.; Zhang, Z.; Zhang, C. *Org. Lett.* 2016, 18, 6176.
- [3] (a) Johnson, A. W.; LaCount, R. B. *J. Am. Chem. Soc.* 1961, 83, 417. (b) Corey, E. J.; Chaykovsky, M. *J. Am. Chem. Soc.* 1965, 87, 1353. (c) Li, A. H.; Dai, L. X.; Aggarwal, V. K. *Chem. Rev.* 1997, 97, 2341.
- (4) (a) Kulinkovich, O. G.; Sviridov, S. V.; Vasilevskii, D. A.; Pritytskaya, T. S. *Zh. Org. Khim.* 1989, 25, 2244. (b) Kulinkovich, O. G.; de Meijere, A. *Chem. Rev.* 2000, 100, 2789.
- [5] (a) Papageorgiou, C. D.; Ley, S. V.; Gaunt, M. J. *Angew. Chem., Int. Ed.* 2003, 42, 828. (b) Liao, W. W.; Li, K.; Tang, Y. *J. Am. Chem. Soc.* 2003, 125, 13030. (c) Bremeyer, N. S.; Smith, S. C.; Ley, S. V.; Gaunt, M. J. *Angew. Chem., Int. Ed.* 2004, 43, 2681. (d) Kunz, R. K.; MacMillan, D. W. *J. Am. Chem. Soc.* 2005, 127, 3240. (e) Ibrahim, I.; Zhao, G. L.; Rios, R.; Vesely, J.; Sundén, H.; Dziedzic, P.; Co'rdova, A. *Chem. - Eur. J.* 2008, 14, 7867. (f) Gao, L.; Hwang, G. S.; Ryu, D. H. *J. Am. Chem. Soc.* 2011, 133, 20708. (g) Ferrary, T.; David, E.; Milanole, G.; Besset, T.; Jubault, P.; Pannecoucke, X. *Org. Lett.* 2013, 15, 5598. (h) Aitken, L. S.; Hammond, L. E.; Sundaram, R.; Shankland, K.; Brown, G. D.; Cobb, A. *Chem. Commun.* 2015, 51, 13558. (i) Shim, S. Y.; Kim, J. Y.; Nam, M.; Hwang, G. S.; Ryu, D. H. *Org. Lett.* 2016, 18, 160.
- [6] (a) Trost, B. M. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 1995, 34, 259. (b) Baran, P. S.; Maimone, T. J.; Richter, J. M. *Nature* 2007, 446, 404.
- (7) (a) Levy, A. A.; Rains, H. C.; Smiles, S. *J. Chem. Soc.* 1931, 0, 3264. (b) Truce, W. E.; Kreider, E. M.; Brand, W. W. *Organic Reactions* 1970, 18, 99.

Synthèse et Potentiel Antibactérien de Nouveaux Dérivés du 2-Thiobenzyl-3-Nitro Imidazo[1,2-a] pyridine

COULIBALI Sioménan^{1*}, ABLO Evrard¹, TOURE Daouda², COULIBALY Souleymane¹

1. *Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière, UFR Sciences des Structures de la Matière et Technologie, Université Félix Houphouët Boigny de Cocody, 22 BP582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.*
2. *Département de Biochimie-Génétique, UFR des Sciences Biologiques, Université Peleforo GON COULIBALY, Korhogo, BP 1328, Côte d'Ivoire*

Résumé : Les problèmes de résistance aux antibiotiques deviennent de plus en plus préoccupant. Pour lutter contre ces résistances, nous avons décidé de synthétiser de nouvelles molécules à base d'imidazo[1,2-a] pyridine. En effet, ce noyau a révélé une large panoplie de propriétés biologiques notamment antimicrobienne, anti inflammatoire, anticancéreuse et antiparasitaire, le consacrant ainsi à des fins d'exploration moléculaire et biologique. L'objectif de ce travail est la synthèse et l'évaluation antibactérienne de nouvelles molécules à base du noyau imidazo[1,2-a] pyridine. La synthèse des 2-thiobenzyl-3-nitro imidazo[1,2-a] pyridines a été réalisée en utilisant la méthode de A.S. Oleynik *et al.* qui consiste à faire réagir le sel du 3-nitro imidazo[1,2-a] pyridine isothiuronium avec des halogénures de benzyle. L'activité antibactérienne a été évaluée par les méthodes de diffusion en milieu solide et de microdilution en milieu liquide sur trois souches bactériennes. Sur les huit 2-thiobenzyl-3-nitro imidazo[1,2-a] pyridines synthétisés, cinq ont présenté une bonne activité antibactérienne sur *P. aeruginosa* ATTC 27853 et *P. aeruginosa* 933C/21. Nous avons pu synthétiser les 2-thiobenzyl-3-nitro imidazo[1,2-a] pyridines par création de liaison carbone-soufre. Ces composés pourraient être utilisés dans la lutte contre certaines bactéries et seront testés sur des souches fongiques perturbant la culture de la tomate.

Mots clés : imidazo[1,2-a] pyridines, halogénure de benzyle, activité antibactérienne

Abstract : The problems of resistance to antibiotics are becoming increasingly worrying. To fight against these resistances, we decided to synthesize new molecules based on imidazo[1,2-a] pyridine. Indeed, this nucleus has revealed a wide range of biological properties including antimicrobial, anti-inflammatory, anticancer and antiparasitic, thus devoting it to the purposes of molecular and biological exploration. The objective of this work is the synthesis and antibacterial evaluation of new molecules based on the imidazo[1,2-a] pyridine nucleus. The synthesis of 2-thiobenzyl-3-nitro imidazo[1,2-a] pyridines was carried out using the method of AS Oleynik and *al.* which consists in reacting the salt of 3-nitro imidazo[1,2-a] pyridine isothiuronium with benzyl halides. The antibacterial activity was evaluated by the methods of diffusion in solid medium and microdilution in liquid medium on three bacterial strains. Of the eight 2-thiobenzyl-3-nitro imidazo[1,2-a] pyridines synthesized, five exhibited good antibacterial activity against *P. aeruginosa* ATTC 27853 and *P. aeruginosa* 933C/21. We were able to synthesize 2-thiobenzyl-3-nitro imidazo[1,2-a] pyridines by carbon-sulfur bond creation. These compounds could be used in the fight against certain bacteria and will be tested on fungal strains that disrupt tomato cultivation.

Keywords: imidazo[1,2-a] pyridines, benzyl halide, antibacterial activity

1.Introduction

Les imidazo[1,2-a]pyridines sont des composés aromatiques bis-hétérocycliques qui résultent de la fusion de type a entre la pyridine et l'imidazole avec un azote angulaire reliant les deux cycles. Les travaux de recherche se sont intensifiés autour des molécules bis-hétérocycliques à cause de leurs nombreuses propriétés biologiques [1][2][3]. Les molécules à base d'imidazo[1,2-a] pyridine ont révélé une très large panoplie de propriétés biologiques notamment les propriétés antimicrobiennes [4][5][6][7], anti-inflammatoires [8], anticancéreuses [9][10] et antiparasitaires [11], consacrant ainsi ce noyau à des fins d'exploration moléculaire et biologique. Le squelette imidazo[1,2-a] pyridine est également présent dans la structure de nombreuses molécules ayant de bonnes propriétés sur le système nerveux central [12]. Certains médicaments et molécules bioactives telles que le Zolpidem, Necopidem, Saripidem, Miroprofen, zolimidine et l'Olprinone ont pour noyau de base le squelette de l'imidazo[1,2-a] pyridine [13]. Le Necopidem et le Saripidem, sont des médicaments utilisés en tant qu'agent anxiolytique [14]. Quant à l'Olprinone [15], ce médicament est utilisé pour le traitement de l'insuffisance cardiaque aiguë et la Zolimidine est utilisée pour le traitement de l'ulcère gastroduodéal [16]. L'activité antiplasmodiale a été mise en évidence par Mahama Ouattara *et al.* [17]. Dans ces travaux, les auteurs ont réalisé le criblage antiplasmodial de cinq dérivés imidazopyridinyl-arylpropenone selon la technique de Rieckmann, suivie du dosage de la production d'antigènes HRP2 par ELISA sur des isolats de *P. falciparum* chloroquino-sensible et chloroquino résistants. Des modifications chimiques ont été faites sur le noyau de l'imidazo[1,2-a]pyridine permettant d'améliorer l'indice thérapeutique de nouvelle classe d'agents antiviraux [18]. Jean-Paul Déto *et al.* [19] ont décrit

une nouvelle série d'anthelminthiques à base d'imidazo[1,2-a]pyridine, montrant une action sur le nématode parasite Strongyle *Haemonchus contortus*. Cyril Fersing et al. [20] ont montré que les dérivés 3-nitro-imidazo[1,2-a] pyridines substitués en position-2 par le thiophényle ou le thiobenzyle ont de bonnes activités antileishmaniales. En effet, l'évaluation *in vitro* de leurs composés, a montré que l'un d'eux est un succès antiparasitaire. Ainsi, la question est de savoir si les imidazopyridines jouent un rôle important dans les processus cellulaires au point d'en faire d'elles des molécules précieuses pour la découverte de nouveaux médicaments. Pour contribuer à cette nouvelle recherche de nouveaux agents antimicrobiens, nous avons élaboré de nouvelles imidazopyridines en fixant des groupements benzylthio en position-2 sur le noyau.

2. Matériels et Méthodes

2.1 Matériels

2.1.1. Matériels de chimie

Sauf indication contraire, tous les réactifs et solvants ont été obtenus auprès de fournisseurs commerciaux et ont été utilisés tels quels. Les spectres RMN ¹H et ¹³C ont été enregistrés sur un spectromètre Bruker Advance III 300 and 75MHz ou 400 and 101 MHz ou encore 600 and 151MHz, dans des solutions de CDCl₃, d'Acétone-*d*₆ et de DMSO-*d*₆ à température ambiante. Le tétraméthylsilane (TMS) est utilisé comme référence et les déplacements chimiques sont exprimés en partie par million (ppm) dans une échelle δ tandis que les constantes de couplages (*J*) sont exprimées en Hertz (Hz).

La multiplicité des signaux est représentée avec les abréviations suivantes : s (singulet), d (doublet), dd (doublet de doublet), t (triplet), q (quadruplet), m (multiplet). Les masses ont été déterminées par spectrométrie de masse à haute résolution (HRMS) en mode électrospray (ESI) sur un analyseur LC-MSD TOF.

2.1.2. Matériels de biologie

Souches bactériennes et préparation de l'inoculum

Les essais antibactériens ont été réalisés sur une bactérie à Gram positif : *S. aureus* ATCC 29213 et deux bactéries à Gram négatif : *P. aeruginosa* ATCC 27853 et *P. aeruginosa* 933C/21 une souche clinique issue du laboratoire de Bactériologie l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire et isolée du liquide gastrique d'un patient hospitalisé au Centre Hospitalier Universitaire de Cocody (Abidjan). La standardisation de l'inoculum bactérien a été réalisée sur colonies de culture jeune dans du NaCl à 0,9 % et la mesure de la densité optique au DENSIMAT a permis d'avoir un inoculum correspondant à environ 10⁶ UFC/mL.

2.2. Méthodes

2.2.1. Méthode de synthèse

Méthode de synthèse de l'acide 2-(2-iminopyridin-1(2H)-yl)acétique 3

Dans un ballon contenant 15 ml d'éthanol, on ajoute respectivement 20.36 mmol (1.2 éq) d'acide chloro acétique **2**, 22.21 mmol (1,1éq) de triéthylamine ajouté goutte à goutte et 24.43 mmol (1,2éq) d'aminopyridine **1**. Le mélange réactionnel est porté au reflux de l'éthanol puis la réaction est suivie par CCM pendant cinq heures. A la fin de la réaction, on laisse le mélange refroidir puis le précipité formé est filtré. L'acide 2-(2-iminopyridin-1(2H)-yl)acétique **3** est obtenu sous forme de cristaux avec un rendement de 71%.

Méthode de synthèse du 2-chloro *H*-imidazo[1,2-a]pyridine **4**

Dans un ballon contenant 15 ml de toluène, on ajoute 9.8 mmol (1éq) d'acide 2-(2-iminopyridin-1(2H)yl)acétique **3**. Le mélange est porté au reflux du toluène puis on ajoute goutte à goutte 39.43 mmol (4éq) de POCl₃. Après seize heures de réaction, on laisse le milieu réactionnel à la température ambiante pendant 15mn puis de l'eau est ajoutée. Ensuite, le ballon contenant le milieu réactionnel est plongé dans un bain de glace et neutralisé avec une solution de NaOH (10%). Le brut réactionnel est extrait avec du dichlorométhane puis on lave la phase organique avec une solution de NaCl saturée. La phase organique est séchée sur du sulfate de sodium anhydride puis le solvant est évaporé sous pression réduite. Le précipité obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice. Éluant : hexane/acétate d'éthyle (60/40). Le 2-chloro-*H*-imidazo[1,2-a]pyridine **4** est obtenu sous forme de poudre

Méthode de synthèse du 2-chloro-3-nitro-*H*-imidazo[1,2-a]pyridine **5**

Dans un ballon contenant 15 ml d'acide sulfurique et plongé dans un bain de glace, on ajoute lentement 9.83mmol (1éq) de 2-chloro-*H*-imidazo[1,2-*a*] pyridine **4** et 34.40mmol (3,5éq) d'acide nitrique. Le mélange réactionnel est laissé sous agitation à température ambiante pendant trois heures puis la réaction est suivie par CCM. A la fin de la réaction, le mélange réactionnel est extrait avec du dichlorométhane puis la phase organique est séchée sur du sulfate de sodium. La phase organique est évaporée sous pression réduite et le produit est obtenu sous forme de cristaux.

Méthode de synthèse du sel de chlorure de thiouronium imidazopyridine 7

A une solution de 2-chloro-3-nitro-*H*-imidazo[1,2-*a*]pyridine **5** (1 eq, 57.2 mmol) dans 50 mL d'acétonitrile, la thiourée **6** (1 eq, 57.2 mmol) a été ajoutée. Le mélange est resté sous agitation pendant 48 h. Après ce temps de réaction, le mélange est laissé à température ambiante jusqu'à refroidissement, le précipité formé est filtré et extrait plusieurs fois à l'acétate d'éthyle. Ensuite il est séché à l'air libre pour donner des cristaux jaunes avec un rendement de 96%.

Méthode de Synthèse des 2-benzylthio-3-nitroimidazo[1,2-*a*]pyridines 9a-h

Dans un ballon contenant 10 ml d'éthanol, est ajouté 3.8mmol (1éq) de sel de chlorure de thiouronium imidazopyridine **7**. Ce mélange est porté au reflux de l'éthanol puis une solution aqueuse contenant 9.5mmol (2.5éq) de soude dissous dans 10mL d'eau et 1.14mmol (3éq) de chlorure ou bromure de benzyle **8** sont ajoutés respectivement. On laisse la réaction au reflux de l'éthanol sous agitation pendant 1 heure. A la fin de la réaction, le mélange réactionnel est extrait avec du dichlorométhane puis la phase organique est séchée sur du sulfate de sodium et évaporée sous pression réduite. Le produit obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice. Éluant : hexane/acétate d'éthyle (60/40). Les composés **9a-h** sont obtenus sous forme de cristaux.

2.2.2. Méthode biologique

Préparation des solutions mères

Les composés synthétisés ont été dissous dans du diméthyle de sulfoxyde (DMSO) dans le but d'obtenir une concentration de 1000 µg/mL. Cette solution mère a été utilisée pour les tests antibactériens. À cette concentration, le DMSO n'a aucun effet sur la croissance des bactéries testées (témoin négatif). Les solutions mères ont été stérilisées à 121 °C/15 minutes. Les tests de stérilité n'ont révélé aucune contamination microbienne.

Préparation de l'essai de diffusion de gélose (agar)

Premièrement, l'activité antibactérienne des composés a été évaluée par la méthode de diffusion décrite par le Comité national des normes de laboratoire clinique (CCNLS) [21] avec quelques modifications. L'inoculum bactérien préalablement préparé a été inoculé par écouvillonnage sur chaque plaque de gélose (agar) Mueller-Hinton. Un volume de 80 µL de chaque composé a été placé dans les puits réalisés à l'aide d'une pipette Pasteur et après incubation à 37 °C pendant 18 à 24 heures. Les diamètres (y compris les puits) des zones d'inhibition autour des puits ont été mesurés (en mm) à l'aide d'un marqueur. Le composé a été dit actif si le diamètre d'inhibition est ≥ 8 mm. Un disque de ciprofloxacine (5 µg) a été utilisé comme antibiotique de référence (témoin positif). Chaque test a été répété trois fois.

Méthodes de détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)

La technique de macrodilution en milieu liquide rapportée par Okou et al.[22] avec quelques modifications a permis de déterminer les CMI. Des séries de double dilution de chaque composé ont été distribuées dans 10 tubes d'hémolyse, suivies par l'ajout d'inoculum bactérien à 10⁶ CFU/mL. On a obtenu une plage de concentration finale de 0,98 à 500 µg/mL. Le tout a été incubé à 37 °C pendant 18 à 24 heures. La CMI est définie comme la concentration la plus faible pour laquelle il n'y a pas de croissance visible.

3. Résultats et discussion

3.1. Chimie

La synthèse des 2-thiobenzyl-3-nitro imidazo[1,2-*a*] pyridines (**9a-h**) a été réalisée en sept étapes réactionnelles. L'originalité de ces travaux réside dans l'introduction de l'atome de soufre en position 2 du squelette de l'imidazopyridine. Les nouvelles molécules (**9a-h**) ont été obtenues par une réaction de substitution nucléophile entre le sel de 3-nitro imidazo[1,2-*a*] pyridine isothiouronium (**7**) avec des bromures ou chlorures de benzyle (**8**) (Schéma 1). La synthèse de ces nouvelles molécules (**9a-h**) s'est

faite in situ en utilisant la méthode de A.S. Oleynik et *al* [23]. Le sel du 3-nitro imidazo[1,2-a] pyridine isothiuronium(**7**) est solubilisé dans un mélange eau / éthanol contenant de la soude puis on ajoute le chlorure ou le bromure de benzyle(**8**). Les 2-thiobenzyl-3-nitro imidazo[1,2-a]pyridines (**9a-h**) sont obtenus avec des rendements compris entre 72 et 94%. La RMN du proton des 2-thiobenzyl (3-nitro imidazo[1,2-a]pyridines) (**9a-h**) nous révèle la présence d'un singulet entre 4,5 et 5ppm attribuable aux protons du groupement méthylénique (S-CH₂). En RMN du carbone-13, nous observons un signal dans la zone comprise entre 33 et 35 ppm caractéristique des pics méthyléniques liés au soufre. Quant au sel du 3-nitro imidazo[1,2-a]pyridine isothiuronium (**7**), nous l'avons obtenu avec un rendement de 96% en utilisant la méthode de Farid M. Ibatullin et *al* [24] qui consiste à faire réagir le 2-chloro imidazo[1,2-a]pyridine (**4**) avec la thiourée au reflux de l'acétonitrile pendant 48 heures. Selon la méthode de Marc-Antoine Bazin et *al* [25], nous avons réalisé la synthèse du 2-chloro 3-nitro imidazo[1,2-a]pyridine (**5**) en introduisant le groupement nitro en position-3 du 2-chloro imidazo[1,2-a]pyridine (**4**) par réaction de substitution électrophile. L'introduction de ce puissant groupement électroattracteur en position-3 du composé (**4**) a pour objectif d'appauvrir sa position-2 en électrons facilitant ainsi les réactions de substitution nucléophiles. Pour réaliser cette synthèse, nous avons fait réagir le composé (**4**) dans un mélange acide sulfurique (H₂SO₄) et acide nitrique (HNO₃) 65% en maintenant le mélange réactionnel dans un bain de glace pendant 3 heures. Le 2-chloro 3-nitro imidazo[1,2-a]pyridine (**5**) est obtenu avec un rendement de 91% et sa structure a été confirmée par les RMN ¹H et ¹³C. Sur le spectre RMN du proton du composé (**5**) nous observons la disparition du singulet à 7.49 ppm correspondant au proton en position-3 du composé (**4**) confirmant la fixation du groupement nitro. Le 2-chloro imidazo[1,2-a]pyridine (**4**) utilisé dans notre réaction a été synthétisé en deux étapes réactionnelles selon la méthode décrite par Brad D. Maxwell et *al*. [26]. Ainsi, nous avons fait réagir dans un premier temps le 2-aminopyridine (**1**) avec l'acide 2-chloro acétique (**2**) au reflux de l'éthanol en présence de triméthylamine pendant 5 heures pour obtenir l'acide 2-(2-iminopyridine) acétique (**3**) avec un rendement de 70%. Le composé (**2**) est traité à son tour en présence de POCl₃ au reflux du toluène pendant 16 heures. On obtient ainsi le 2-chloro imidazo[1,2-a] pyridine (**4**) avec un rendement de 81% et sa structure a été également confirmée par la RMN ¹H et ¹³C.

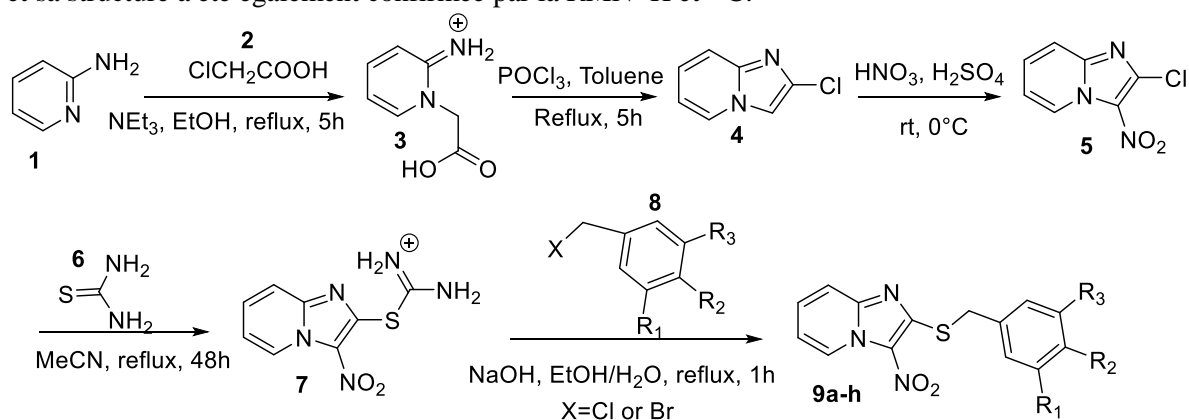


Schéma 1 : Synthèse des 2-thiobenzyl -3-nitro imidazo[1,2-a]pyridines **9a-i**

3.2. Biologie

L'activité antibactérienne de la série de 2-thiobenzyl-3-nitro imidazo[1,2-a]pyridine (**9a-i**) synthétisée au cours de cette étude a été évaluée *in vitro* par les méthodes de diffusion sur gélose et de macrodilution en milieu liquide sur des bactéries à Gram positif et à Gram négatif. Les résultats des essais de diffusion sur gélose sont rapportés dans le tableau I. Tous les dérivés testés ne présentent aucun effet sur la souche de *S. aureus* ATCC 29213 à la concentration de 1000 µg/mL. Les composés **9b**, **9c**, **9h** et **9i** sont également sans effet sur les deux souches de *P. aeruginosa*. Par contre, sur la souche de référence *P. aeruginosa* ATCC 27853, les composés **9a**, **9d**, **9e**, **9g** et **9f** ont présenté une activité avec des diamètres d'inhibition allant de 12±0,01 à 17±0,02 mm. Ces composés ont également montré une activité antibactérienne sur la souche clinique *P. aeruginosa* 933C/21 avec des diamètres d'inhibition allant de 13±0,01 à 18±0,04 mm. Les composés **9a** et **9g** ont révélé la meilleure activité sur les souches de *P. aeruginosa* ATCC 27853 (17±0,02 mm et 15±0,00 mm) et de *P. aeruginosa* 933C/21 (18 ±0,04 mm et 13±0,01 mm). Les résultats des CMI sont rapportés dans le Tableau II. Les composés **9a**, **9d**, **9e**, **9f** et

9g ont montré une activité antibactérienne significative avec une CMI comprise entre 7,81 et 250 µg/mL sur les deux souches de *P. aeruginosa*. Les composés **9a** et **9g** ont montré la meilleure activité antimicrobienne avec une meilleure CMI sur les souches de *P. aeruginosa* ATCC 27853 (7,81 et 31,25 µg/mL) et *P. aeruginosa* 933C/21 (31,25 et 120 µg/mL). L'analyse de ses résultats nous permet de conclure que les substituants que nous avons introduits sur le noyau phényle des 2-thiobenzyl-(3-nitroimidazo[1,2-a]pyridines défavorisent l'activité antibactérienne. Les électroattracteurs ou donneurs introduits sur le groupement phényle n'améliorent pas l'activité antibactérienne. Lorsque les groupements électroattracteurs comme CO₂Me et CF₃ sont introduits en position para du phényle des 2-thiobenzyl-3-nitroimidazo[1,2-a]pyridines (**9c** et **9h**), ils neutralisent l'activité antibactérienne tandis qu'en position méta le groupement nitro ne neutralise pas totalement l'activité antibactérienne.

Tableau I: Diamètre des zones d'inhibition (mm puit compris) de la série de 2-thiobenzyl-3-nitroimidazo[1,2-a]pyridines (**9a-h**)

Composés	Diamètre des zones d'inhibition (mm)*		
	Gram Négatif		Gram Positif
	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>
	ATTC 27853	933C/21	ATTC 29213
9a	17±0,02	18±0,04	6±0,00
9b	6±0,00	6±0,00	6±0,00
9c	6±0,00	6±0,00	6±0,00
9d	12±0,01	14±0,02	6±0,00
9e	12±0,02	13±0,01	6±0,00
9f	12±0,01	13±0,04	6±0,00
9g	15±0,00	16±0,00	6±0,00
9h	6±0,00	6±0,00	6±0,00
Ciprofloxacin (5 µg)	31±0,01	33±0,02	22±0,04

Les diamètres des zones d'inhibition (mm), diamètre du puit inclus (6mm), sont exprimés en ±SD des essais réalisés en triple.

Tableau II: Concentration Minimale Inhibitrice (µg/mL) de la série de 2-thiobenzyl-3-nitroimidazo[1,2-a]pyridines (**9a-h**).

Composés	CMI (µg/mL)	
	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i>
	ATTC 27853	933C/21
9a	7,81	31,25
9d	125	250
9e	125	250
9f	125	250
9g	31,25	120
Ciprofloxacin	0,25	0,25

4. Conclusion

Dans ce travail, la synthèse et la caractérisation de dérivés du 2-thiobenzyl-3-nitroimidazo[1,2-a]pyridines a permis de mettre en évidence neuf (9) nouvelles molécules (**9a-h**). Le screening antibactérien réalisé *in vitro* sur des bactéries à Gram positif et à Gram négatif a montré que les composés **9a**, **9d**, **9e**, **9f** et **9g** manifestent une activité antibactérienne significative sur les bactéries à Gram négatif. Les composés **9a** et **9g** étaient les plus intéressants pour leur activité sur les souches de *P. aeruginosa*. L'introduction de groupements électroattracteurs en position para du noyau phényle des 2-thiobenzyl-3-nitroimidazo[1,2-a]pyridines neutralise totalement l'activité antibactérienne. Ces résultats soutiennent les propriétés antibactériennes des imidazopyridines. Aux vues des propriétés antibactériennes forts intéressantes des composés **9a** et **9g** sur les deux bactéries de *P. aeruginosa*, il serait intéressant de poursuivre l'étude de leur effet toxique avant leur application notamment dans le traitement des infections à *P. aeruginosa*.

Références

- [1]-M. Soral, I. Bouillon, V. Krchnak, *J. Comb. Chem.* 10 (2008) 923-933.
- [2]- B. Maiti, K. Chanda, a critical review, *RSC Adv.* 6 (2016) 50384-50413
- [3]- S. Shafi, S. Singh, S. Haider, D. Mahendhar Reddy, M. Alam, G. Narayana Swamy, H. Kumar, *J. Heterocycl. Chem.* 50 (2013) 361e365.
- [4]- Pushpalatha Budumuru, Srinivasarao Golagani, Venkata Siva Satyanarayana Kantamreddi, *Asian Journal of Pharmaceutical Clinical Research*, vol.11, n°8,p.252-258,mai2018,doi:http://dx.doi.org/10.22159/ajpcr.2018.v11i8.2621
- [5]-Ah-Tel, T.H., Al-Qawamesh, R.A., *Eur. J. Med. Chem.*, 2010, 45, 5848-5855.
- [6]-Moraski, G.C., Markley, L.D., Hipskind, P.A., Boshoff, H., Cho, S., Franzblau, S.G., Miller, M.J., *Med. Chem. Lett.*, 2011, 2, 456-470.
- [7]-Nordqvist, A., Nilsson, M.T., Lagerlund, O., Muthas, D., Gising, J., Yahiaoui, S., Odell, L.R., Srinivasa, B.R., Larhed, M., Mowbray, S.L., Karlén, A., *Med. Chem. Comm.*, 2012, 3(5), 620-626.
- [8]-Hieke, M., Rödl, C.B., Wisniewska, J.M., La Buscató, E., Stark, H., Schubert-Zsilavec, M., Steinhilber, D., Hofman, B., Proschak, E., *Med. Chem. Lett.*, 2012, 22, 1969-1975
- [9]- Gui-Ting Song, nicholas mcconnell, Zhongzhu Chen, Xiao-, Fang Yao, jiu-hong huang, Jie Lei, Jin Zhu, Hui-kuan Lin, et Brendan Frett, Hong-yu Li, and Zhi-gang Xu, *Advanced Synthesis & Catalysis*, vol. 28, p. 0-7, 2018, doi: 10.1002/adsc.201800728.
- [10]-Dahan-Farkas, N., Langley, C., Rousseau, A. L., Yadav, D.B., Davids, H., de Koning, C.B., 6-substituted imidazo[1,2-a]pyridines, *Eur. J. Med. Chem.*, 2011, 46, 4573-4583.
- [11]-López-Martinez, M., Salgado-Zamora, H., Campos-Aldrete, M.E., Trujillo-Ferrara, J.G., Correa-Basurto, J., Mexica-Ochoa, C., *Med. Chem. Res.*, 2012, 21, 415-420.
- [12]- A. K. Bagdi, S. Santra, K. Monir, et A. Hajra, *Chem. Commun.*, vol. 51, n° 9, p. 1555-1575, 2015, DOI: 10.1039/C4CC08495K.
- [13]-M.A.n. Claudio-Catal an, S.G. Pharande, A. Quezada-Soto, K.G. Kishore, A. Rentería-Gomez, F. Padilla-Vaca, R. G amez-Montano, *ACS Omega* 3 (2018) 5177e5186.
- [14]- A. K. Bagdi, S. Santra, K. Monir, et A. Hajra, *Chem. Commun.*, vol. 51, n° 9, p. 1555-1575, 2015, doi: 10.1039/C4CC08495K.
- [15]- Cécile Enguehard-Gueiffier and Alain Gueiffier, *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, vol. 7, n° 9, p. 888-899, 2007.
- [16]- S. Vidyacharan, A. H. Shinde, B. Satpathi, et D. S. Sharada, *Green Chem.*, vol. 16, n° 3, p. 1168, 2014, doi: 10.1039/c3gc42130a.
- [17]- M. Ouattara, D. Sissouma, M. W. Koné, et W. Yavo, *Comptes Rendus Chimie*, vol.19, n°7, p. 850-856, juill. 2016
- [18]- Alain Gueiffier., Sylvie Mavel, Mohammed Lhassani, Ahmed Elhakmaoui, Robert Snoeck, Graciela Andrei., Olivier Chavignon,r Jean-Claude Teulade,r Myriam Witvrouw, Jan Balzarini, Erik De Clercq, and, et Jean-Pierre Chapat, *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 41, n° 25, p. 5108-5112, 1998
- [19]- J.-P. D. U. N'Guessan *et al.*, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, vol. 25, n° 24, p. 6695-6706, déc. 2017.
- [20]- C. Fersing *et al.*, *ACS Med. Chem. Lett.*, vol. 10, n° 1, p. 34-39, janv. 2019, doi: 10.1021/acsmchemlett.8b00347.
- [21]- *NCCLS Approval Standard Document M2-A7*. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Vilanova, PA, USA, 2000.
- [22]-Obou Constantin Okou, Sopié Edwige-Edwige-Salomé Yapo, Kouassi Elisée Kporou, Guy Léonce Baibo, Sylvia Monthaut, Allico Joseph Djaman. 2018. *Journal of Applied Biosciences* 122: 12287-12295.
- [23]- A. S. Oleynik1, N. Yu. Pevneva, N. V. Kandalintseva, A. E. Prosenko, O. M. Khoshchenko and M. I. Dushkin, *Chemistry for Sustainable Development* 16 (2008) 551.556
- [24]-Farid M. Ibatullin, Stanislav I. Selivanov, Alexander G. Shavva., *Synthesis* 2001, No. 3, 419–422 ISSN 0039-7881
- [25]- Marc Antoine Bazin, Sophie Marhadou, Alain Tonnerre and Pascal Marchand.(2013), *Tetrahedron Letters*, 54(39), pp 5378-5382.
- [26]- Brad D. Maxwell1, Olivier G. Boye 1 and Kazunari Ohta, *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*, vol. 48, p. 397-406, 2005, doi: 10.1002/jlcr.934.

Évaluation de la bioefficacité de trois extraits hydroalcooliques issus des deux positions radiales de trois essences ligneuses durables ivoiriennes contre les larves de *spodoptera frugiperda* en milieu semi-contrôlé

Appolinaire Bley BLEY-ATSE^{1*}, Armand Nahoulé ADJA², Florence Bobelé NIAMKE¹, Augustin Amissa ADIMA¹, Tahiana RAMANANANTOANDRO³, Mathias DANHO², Jean Claude N'guessan YAO¹, Nadine AMUSANT⁴

¹Laboratoire de Procédés Industriels, de Synthèse de l'Environnement et des Energies Nouvelles, INP-HB

²Laboratoire de Zoologie Agricole et d'Entomologie, INP-HB, Côte d'Ivoire

³Laboratoire de Technologie du bois, Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques, Université de Madagascar

⁴Laboratoire des sciences du bois, Ecologie des Forêts de Guyane CIRAD Guyane Française, France

L'insécurité alimentaire due aux insectes ravageurs pourrait aller de mal en pire si rien n'est fait. L'agriculture, grand pourvoyeur de devises et de nourriture pour de nombreuses familles est confronté à d'énormes difficultés de production. La plupart des phytopharmaceutiques utilisés contre les ravageurs occasionnent de graves problèmes sanitaires et environnementaux puis des résistances chez les déprédateurs [1]. Ainsi rechercher des produits naturels s'avère indéniable et vital. Des investigations scientifiques ont déjà maintes fois été entreprises sur des plantes pour leurs molécules [2]. Certaines études ont montré que les arbres tropicaux synthétisent dans le bois des molécules bioactives responsables de leur résistance intrinsèque [3]. L'exploitation forestière générant divers déchets sous-exploités constitue un problème environnemental. Les molécules qui s'y trouvent pourraient être valorisées pour lutter contre les déprédateurs. Afin d'évaluer l'efficacité biologique des extraits des essences étudiées, une infestation naturelle de plants de maïs a été effectuée. Les extraits issus des échantillons de bois collectés, séchés, broyés ont été appliqués sur des plants. La dose de 100 mg/mL issue du duramen s'est avérée efficace paradoxalement à l'aubier. En somme les résultats ont montré une efficacité des extraits de duramen étudiés. Ces résultats pourraient constituer un atout dans la lutte contre les bioagresseurs.

Mots clés : biomolécules, *Spodoptera frugiperda*, bois durables, Côte d'Ivoire

Evaluation of the bioefficacy of three hydroalcoholic extracts from the two radial positions of three ivorian sustainable wood species against *spodoptera frugiperda* larvae in semi-controlled environment

Food insecurity due to insect pests could go from bad to worse if nothing is done. Agriculture, a major provider of foreign exchange and food for many families, is facing enormous production difficulties. Most of the plant protection products used against pests cause serious health and environmental problems and resistance in pests [1]. The search for natural products is therefore undeniable and vital. Scientific investigations have already been undertaken on plants for their molecules [2]. Some studies have shown that tropical trees synthesise bioactive molecules in the wood that are responsible for their intrinsic resistance [3]. An environmental problem is the logging of various underutilised wastes. These molecules could be used to control pests. In order to evaluate the biological efficiency of the extracts of the studied species, a natural infestation of maize plants was carried out. The extracts from the collected, dried and ground wood samples were applied to the plants. The dose of 100 mg/mL from the heartwood proved to be effective paradoxically to the sapwood. In sum, the results showed that the heartwood extracts studied were effective. These results could be an asset in the fight against bioaggressors.

Keywords : biomolecules, *Spodoptera frugiperda*, sustainable wood, Ivory Coast

1-Introduction

L'insecte ravageur *Spodoptera frugiperda* est un ravageur très féroce et polyphage qui détruit beaucoup de cultures à travers le monde, particulièrement en Afrique. Les pertes agricoles au niveau mondiale dues aux insectes pourraient être plus grave si rien n'est fait, or les produits agricoles sont sources de revenus et de vivres pour de nombreuses familles [4]. Les pesticides chimiques sont à la base de sérieux risques sanitaires avec des pathologies graves en l'occurrence le cancer, l'alzheimer et le parkinson etc).

A cela s'ajoute les problèmes environnementaux tel que l'eutrophisation des eaux et la pollution de l'eau, du sol et de l'air. Des phénomènes de résistance chez les ravageurs se font de plus en plus remarqués à cause de l'utilisation inadéquate de pesticides sans oublier la disparition des insectes utiles (abeilles pollinisatrices, les insectes bioindicateurs et les auxiliaires [1]).

Il devient vital de rechercher des produits naturels et écologiques [4] [5] [6]. En outre, l'exploitation forestière produit d'énormes quantités de déchets estimés

a plus de 30 000 m³/an encore sous exploités surtout en Afrique. De plus, certaines études ont révélé que les essences forestières tropicales synthétisent dans leur bois des biomolécules responsable de leur résistance naturelles [3]. Ces molécules pourraient être valorisées pour remplacer les pesticides chimiques. Les essences ligneuses sont-elles sources de biomolécules ? Ces molécules sont-elles intéressantes voire biologiquement actives sur les insectes ravageurs des cultures ?

L'objectif général sera d'évaluer l'activité insecticide d'extraits hydroéthanoliques de quelques essences forestières ivoiriennes durables sur les insectes ravageurs des cultures vivrières.

De façon spécifique, il s'agira de :

Collecter et préparer le matériel ligneux de l'étude ;

Effectuer l'extraction hydroalcoolique sur le broyat des 3 essences forestières et faire un screening phytochimique des extraits obtenus ;

Evaluer les extraits issus des essences ligneuses étudiées sur l'un des principaux insectes ravageurs du maïs en culture, le *Spodoptera frugiperda* (*S. frugiperda*).

2-Matériel et méthodes

Notre démarche méthodologies se structure en quatre (4) étapes essentielles qui sont:

Etape 1 : Cette première section comprend les activités suivantes :

Etude bibliographique, sélection des essences de bois durables ivoiriennes, collecte d'échantillons d'arbres, confection d'herbiers

Etape 2 : Les activités de cette deuxième section ont été plus portés sur la préparation du matériel végétal : Préparation des échantillons de bois: Sciage, séchage , découpage, concassage, broyage, extraction

Etape 3 : Les tâches de cette troisième partie ont été plus axés sur l'étude entomologique. à savoir l'identification et la caractérisation de l'un des plus importants insectes ravageurs de la culture de maïs, le *Spodoptera frugiperda*.

Etape 4 : Enfin, la quatrième partie a traité des bioessais au laboratoire : c'est à dire la caractérisation physico-chimique des extraits et l'application des extraits étudiées sur *Spodoptera. Frugiperda*.et évaluation du degré de sévérité des dégâts des larves sur les plants. Ci-dessous le tableau exprimant le degré des dégâts des larves.

Tableau 1 : Tableau de sévérité des dégâts (Gouet et al., 1985)

INDICES	SÉVÉRITÉ DES DÉGÂTS	OBSERVATIONS
0	Aucun dégât visible	Pas d'attaque visible
1	De 1% à 10% de dégâts	Attaques isolées à faibles
2	De 10% à 25% de dégâts	Attaques modérées
3	De 25% à 50% de dégâts	Attaques moyennes
4	De 50% à 75% de dégâts	Attaques fortes
5	Plus de 75% de dégâts	Plants détruits

3-Résultats et discussion

3-1-Rendement d'extraction

Rendement = (masse initiale/masse finale) x 100

Masse initiale : masse du broyat (poudre de bois)

Masse finale : masse de l'extrait sec

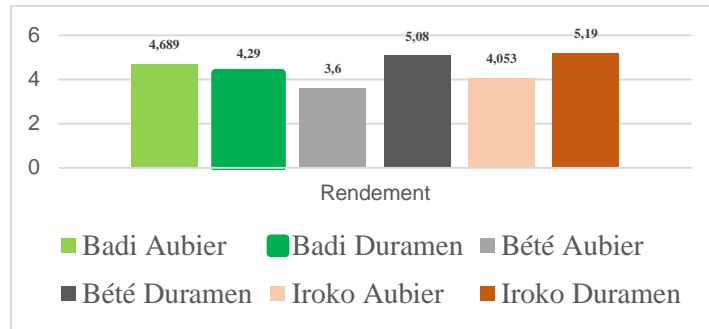


Figure 1 : Rendement d'extraction des trois essences étudiées

Le rendement d'extraction variait d'une essence à une autre. Le rendement le plus élevé a été celui de l'Iroko, le Bété venait en deuxième position et la Badi fermait la marche avec des proportions d'extraits respectives avoisinant les 5 et 4%. Selon des auteurs la proportion de duramen au niveau des essence représente 30% de l'arbre entier et 70% de l'aubier. C'est ce qui explique la faible proportion de l'extrait totaux du duramen.

23-2- Screening phytochimique

Familles des molécules		B		Bx		I	
		Aubier	Duramen	Aubier	Duramen	Aubier	Duramen
Alcaloïdes	Dragendorff	+	+	+	+	+	+
	Mayer	+	+	+	+	-	-
Tanins	Catéchiques	+	+	+	+	+	+
	Galliques	-	-	-	-	-	-
Quinones		-	-	-	-	-	-
Polyterpenes/ Stéroïdes		-	-	-	-	-	-
Polyphénols		+	+	+	+	+	+
Flavonoïdes		+	+	+	+	+	+
Saponines		-	-	+	-	-	-

Unités:

Polyphenol totaux: (mg. L⁻¹)

Flavonoïdes totaux: (µg Eq

AAO: (µmol TE/L)

Légende :

Présence (+)

Absence (-)

B : Badi ; **Bx** : Bété ; **I** : Iroko

Figure 2 : Screening phytochimique des extraits étudiés

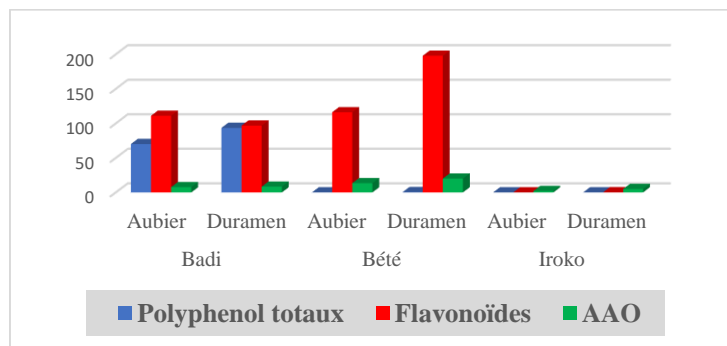


Figure 3 : Activité antioxydante des trois essences étudiées

Le screening des extraits étudiés a révélé la présence de métabolites secondaires (alcaloïdes, tanins catéchiques, polyphénols, flavonoïdes) et une propriété antioxydante (AAO) au niveau des 2 positions radiales étudiées. Ces composés sont à la base de la durabilité naturelle des bois durables selon de précédentes études [3];[7];[8].

3-3-Activité biologique des extraits d'aubier et états sanitaire des plants. Phase de levé et croissance

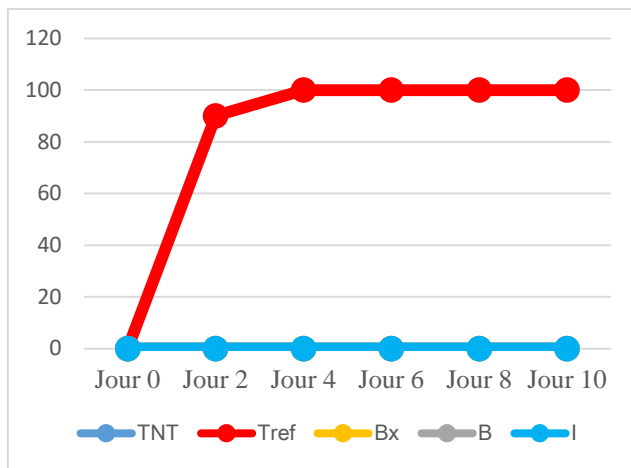


Figure 4 : Activité de l'extrait d'aubier des 3 espèces à la dose de 0,01 g/mL

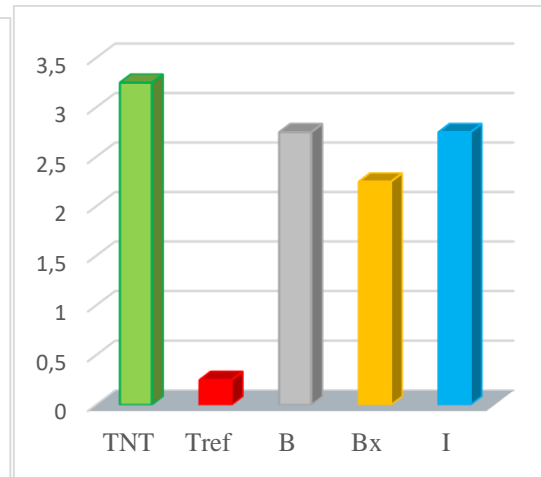


Figure 5 : Indice de dégât des plants infestés après traitement

A la levée, on remarque aucune mortalité chez les larves exposées à l'extrait d'aubier. Cela pourrait s'expliquer par le fait que l'aubier ne contient pas assez de bio composées qui seraient toxique vis à cis des larves ravageuses.

A la phase de croissance des plants de maïs, on également aucune mortalité n'est observée sur les larves qui ont été au contact de l'extrait d'aubier. Cela pourrait s'expliquer par le fait que l'aubier ne contient pas assez de bio composées qui seraient toxique vis à cis des larves ravageuses.

3-4-Activité biologique des extraits du duramen et états sanitaire des plants. Phase de levée et croissance

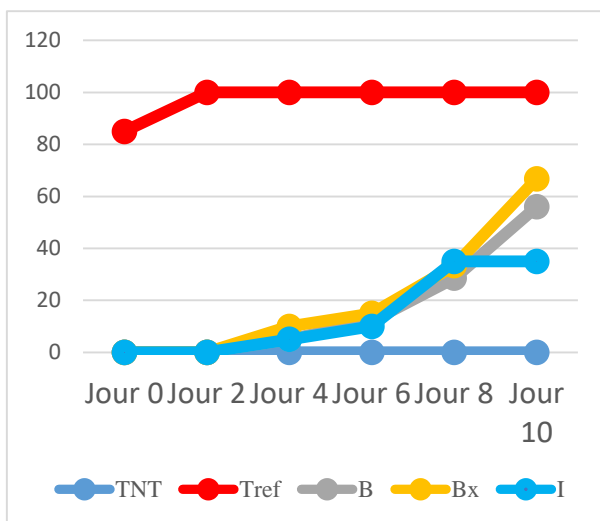


Figure 6 : Activité des 3 extraits de duramen à la dose de 0,01 g/mL.

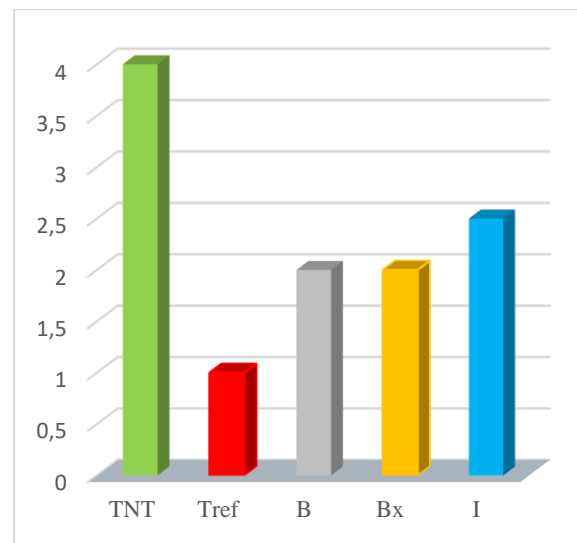


Figure 7 : Indice de dégât des plants infestés après traitement

Cela pourrait s'expliquer par le fait que le duramen contient d'intéressantes molécules appelées de bio composées ou métabolites secondaire qui seraient toxique vis à cis des larves ravageuses d'où la mort enregistrée des insectes une fois au contact de celles-ci. L'indice de sévérité de dégât était de 2 mais plus remarqué que celui de la phase de l'évée. Cependant, toujours pendant cette phase de CROISSANCE des plants du maïs, le taux de mortalité relatif à l'extrait le plus important c'est-à-dire l'extrait du Bété (Bx) était faible (35% au 8^{ème} jour) et de 66,66% au 10^{ème} Jour avec pour indice 2. Parmi les essences étudiées, l'extrait du duramen et de l'aubier de l'essence I (Iroko) a été le moins actif contrairement aux 2 autres espèces Badi (B) et Bété (Bx).

La mort des insectes mis au contact avec les extraits de duramen et d'aubier pourrait signifier la présence de ces biomolécules dans les extraits [6] ; [12]; [10].

Les polyphénols, les flavonoïdes sont dotés de propriétés antifongiques et insecticides et ceux-ci sont responsable de la résistance naturelle du bois [2] ; [8].

Conclusion

Les insectes ravageurs de la culture du maïs attaquent les champs à partir de la levée des plants et les plus redoutables insectes sont en majorité les larves de lépidoptères de *Spodoptera frugiperda*. Les 2 extraits issus du duramen parmi les 3 évalués ont été plus actifs pendant la LEVEE du maïs à 0,01 g/mL au 4^{ème} et au 8^{ème} jour en tuant plus de 80% des larves, L'indice de sévérité de dégât était de 2. Cependant à la phase de CROISSANCE du maïs, le taux de mortalité relatif à l'extrait le plus important c'est-à-dire l'extrait du Bété (Bx) était faible (35% au 8^{ème} jour) et de 66,66% au 10^{ème} Jour avec pour indice 2. Parmi les essences étudiées, l'extrait du duramen et de l'aubier de l'essence I (Iroko) a été le moins actif contrairement aux 2 autres espèces Badi (B) et Bété (Bx).

En perspectives, il sagira d'évaluer l'effet des extraits étudiés sur *S. frugiperda* en milieu naturel (champ) afin de mieux évaluer l'efficacité des différents extraits et formuler un bioinsecticide pour une lutte écologique.

References Bibliographiques

- [1] Adam, S., Etorh, P., Totin, H., Koumoulo, L., Amoussou, E., Aklikokou, K., Boko, M., 2011. Pesticides et métaux lourds dans l'eau de boisson, les sols et les sédiments de la ceinture cotonnière de Gogounou, Kandi et Banikoara (Bénin). International Journal of Biological and Chemical Sciences 4. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v4i4.6305>
- [2] Lengai, G.M.W., Muthomi, J.W., Mbega, E.R., 2020. Phytochemical activity and role of botanical pesticides in pest management for sustainable agricultural crop production. Scientific African 7, e00239. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2019.e00239>
- [3] J.-B.S. Anouhe, F.B. Niamke, M. Faustin, D. Virieux, J.-L. Pirat, A.A. Adima, S. Kati-Coulibaly, N. Amusant, 2018., « The role of extractives in the natural durability of the heartwood of *Dicorynia guianensis* Amsh: new insights in antioxydant and antifungal properties», *Annals of Forest Science*, vol. 75, n° 1, p. 15, doi: 10.1007/s13595-018-0691-0.
- [4] Guèye, M.T., Seck, D., Wathélet, J.-P., Lognay, G., 2011. Lutte contre les ravageurs des stocks de céréales et de légumineuses au Sénégal et en Afrique occidentale : synthèse bibliographique. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 12.
- [5] Nicolopoulou-Stamati, P., Maipas, S., Kotampasi, C., Stamatis, P., Hens, L., 2016. Chemical Pesticides and Human Health: The Urgent Need for a New Concept in Agriculture. Front. Public Health 4. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2016.00148>
- [6] Yarou, B.B., Silvie, P., Komlan, F.A., Mensah, A., Alabi, T., Verheggen, F., Francis, F., 2017. Plantes pesticides et protection des cultures maraichères en Afrique de l'Ouest (synthèse bibliographique). Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 17.
- [7] N Amusant, C Moretti, B Richard, E Prost, 2007. Chemical compounds from *Eperua falcata* and *Eperua grandiflora* heartwood and their biological activities against wood destroying fungus (*Coriolus versicolor*)
- [8] F. B. Niamke, 2010, « Recherche de déterminants biochimiques de la durabilité naturelle du bois de teck (*Tectona Grandis* L. F.) », Thèse en Cotutelle, Université d'Abidjan et Université de Montpellier II, Côte d'Ivoire et France, 358 pages.
- [9] Gouet J. P., Richard M., Bloc D., Camhaji E., Desecures J. P., Dolz J., Madelon J., Tranchefort J. & Weiss P., 1985. Elaboration d'un protocole d'essai ; proposition d'un plan type et quelques commentaires. ITCF, ISBN, Paris (France), 47 p.
- [10] Kebbi-Benkeder, Z., Dumarçay, S., Touahri, N., Manso, R., Gérardin, P., Colin, F., 2016. Les nœuds : un bois méconnu et une source importante de composés extractibles 20.
- [11] N. J. Hawkins, C. Bass, A. Dixon, et P. Neve, 2019, « The evolutionary origins of pesticide resistance: The evolutionary origins of pesticide resistance », *Biol Rev*, vol. 94, n° 1, p. 135-155, doi: 10.1111/brv.12440.
- [12] Gnago, J., Danho, M., Agneroh, T., Fofana, I., Kohou, A., 2011. Efficacité des extraits de neem (*Azadirachta indica*) et de papayer (*Carica papaya*) dans la lutte contre les insectes ravageurs du gombo (*Abelmoschus esculentus*) et du chou (*Brassica oleracea*) en Côte d'Ivoire. International Journal of Biological and Chemical Sciences 4. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v4i4.63035>

Saponines et flavonoïdes glycosylés des feuilles de *Ziziphus mauritiana* (Rhamnaceae) de la zone forestière de Côte d'Ivoire

Chardin Seri SERI^{1,2}, Timothée Aboua OKPEKON¹, Philomène Akoua YAO-KOUASSI¹, Harisolo RAMIARANTSOA¹, Joël DADE¹, Laurence Voutquenne-NAZABADIOKO²

¹Laboratoire de Chimie et Réaction de la Matière, Université Félix Houphouët-Boigny d'Abidjan-Cocody, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

²CNRS, ICMR UMR 7312, Université de Reims Champagne Ardenne, 51097, Reims, France

Résumé

La présente étude porte sur *Ziziphus mauritiana* Lam (Rhamnaceae), une plante fréquemment utilisée dans la pharmacopée ivoirienne comme anti-inflammatoire, antidiarrhéique, antidiabétique et antioxydant. C'est un arbuste de l'Afrique subsaharienne, épineux et sarmenteux, pouvant atteindre 2 m de haut. Dans une précédente étude, le screening phytochimique a montré la présence dans cette espèce de flavonoïdes, d'alcaloïdes, de saponines et de stérols qui semblent être responsables de ses propriétés antioxydantes. Afin d'identifier la structure des composés bioactifs responsables de ses activités traditionnellement observées, nous avons entrepris une étude phytochimique des feuilles de *Ziziphus mauritiana*. Ce qui nous a permis d'identifier trois saponines, six flavonoïdes et un dérivé de chalcone de l'extrait méthanolique suite à l'analyse de leurs données spectrales en RMN (1D et 2D) et en SM, à basse et haute résolution, et par comparaison avec les données de la littérature. La présence de flavonoïdes et de saponines dans les feuilles de *Ziziphus mauritiana* peut permettre d'expliquer l'usage thérapeutique qui en est fait localement, car de façon générale, ces métabolites secondaires sont connus pour leurs activités anticancéreuses, anti-inflammatoires, antioxydantes et antimicrobiennes. Plus loin, ces composés seront évalués sur des modèles biologiques afin de confirmer ces activités.

Mots clés : *Ziziphus mauritiana* ; Rhamnaceae ; Saponines ; Flavonoïdes.

Saponins and glycosylated flavonoids from the leaves of *Ziziphus mauritiana* Lam. from Côte d'Ivoire forest area

Abstracts

The present study focuses on *Ziziphus mauritiana* Lam (Rhamnaceae), a plant frequently used in the Ivorian pharmacopoeia as an anti-inflammatory, antidiarrheal, antidiabetic and antioxidant. It is a shrub of sub-Saharan Africa, thorny and sarmentose, which can reach 2m in height. In a previous study, phytochemical screening showed the presence in this species of flavonoids, alkaloids, saponins and sterols which seem to be responsible for its antioxidant properties. In order to identify the structure of the bioactive compounds responsible for its traditionally observed activities, we undertook a phytochemical study of the leaves of *Ziziphus mauritiana*. This allowed us to identify three saponins, six flavonoids and one chalcone derivative from the methanolic extract following the analysis of their spectral data in NMR (1D and 2D) and MS, at low and high resolutions, and by comparison with data from the literature. The presence of flavonoids and saponins in the leaves of *Ziziphus mauritiana* may help explain the therapeutic use made of them locally, because in general, these secondary metabolites are known for their anticancer, anti-inflammatory, antioxidant and antimicrobial activities. Further, these compounds will be evaluated on biological models in order to confirm these activities.

Keywords: *Ziziphus mauritiana*, Rhamnaceae, Saponins, Flavonoids

1. Introduction

Ziziphus mauritiana Lam. (Rhamnaceae) est un arbuste épineux et sarmenteux, atteignant 1–2 m de haut, réparti dans la zone subsaharienne d'Afrique, du Sénégal à la Somalie [1;2]. On le trouve dans la savane, régions du centre et du nord de la Côte d'Ivoire, où il est utilisé localement dans le traitement de l'anémie, l'hypertonie, la néphrite et les maladies nerveuses [3]. Cette plante, introduite dans les zones forestières de la Côte d'Ivoire, est utilisée contre le diabète, l'hypertension artérielle et diverses formes de l'inflammation [4]. Les feuilles sont utilisées dans le traitement de la diarrhée, des abcès et de la gonorrhée, de l'hypertension artérielle, des troubles hépatiques et du diabète [5]. Les investigations phytochimiques menées à ce jour sur les feuilles de *Ziziphus mauritiana* ont montré que l'espèce est constituée d'alcaloïdes cyclopeptidiques, de stérols, de triterpènes saponines et de flavonoïdes [6]. Des études récentes ont montré que l'extrait de feuilles de cette plante possède des activités antimicrobienne, antioxydante [6-8], anti-inflammatoire [9], provoquent une thrombocytose et induisent des dommages aux tissus rénaux chez le rat [10], mais aucun composé n'a été identifié auparavant. De plus, l'extrait de

saponine des feuilles de *Z. mauritiana* possède des propriétés antidiabétiques [11]. De même, moins d'attention a été accordée aux feuilles de *Z. mauritiana* poussant en Côte d'Ivoire [10]. Ainsi, dans le cadre de cette étude, nous avons purifié l'extrait au méthanol des feuilles de cette espèce afin d'identifier sa composition chimique. Dans ce rapport, nous présentons l'isolement et la caractérisation structurale d'une saponine non décrite (**Figure 1**), ainsi que neuf composés connus

2. Matériel et méthodes

2.1. Procédures expérimentales générales

Les pouvoirs rotatoires ont été mesurés sur un polarimètre électronique Perkin-Elmer, Model 341 (589 nm, 20 °C). Les spectres IR ont été obtenus sur un Spectromètre (Nicolet Avatar) 320 FT-IR dans des pastilles de KBr. Les données RMN ont été réalisées dans le MeOD sur un spectromètre Bruker Avance 500 ou 600 MHz. Les données SMIES-HR ont été obtenues à l'aide d'un spectromètre de masse haute résolution Micromasse ESI-Q-TOF Micro (Manchester, UK). Les spectres de masse ont été enregistrés en mode ions positifs dans la gamme m/z 100-2000, avec une résolution de masse de 20000 et une tension d'accélération de 0,7 kV. Les colonnes de chromatographie CC ont été réalisées sur une résine HP-20 Sigma Aldrich. La chromatographie flash a été réalisée sur un appareil de type GRACE Reveleris équipé d'une double détection UV et ELSD utilisant les Cartouches Grace® Gel de silice ou RP-18. Des séparations CLHP ont été réalisées sur un appareil de type Dionex équipé d'un passeur d'échantillons ASI-100, une Pompe Ultimate 3000, un four à colonne STH 585, un détecteur à barrette de diodes UVD 340S et un logiciel Chromeleon. Une colonne RP-18 pré-remplie Phenomenex 250 × 15 mm, Luna 12 µm a été utilisée pour la CLHP semi-préparation. La phase mobile était constituée de H₂O acidifiée avec du TFA (0,0025 %) et de CH₃CN avec un débit de 5 mL/min et la détection a été obtenue à 205 et 210 nm. Les CCM ont été réalisées sur des plaques en aluminium Silica gel 60F₂₅₄ (0,2 mm, Merck). Les taches ont été visualisées, après développement de la plaque par le système CHCl₃/MeOH/H₂O (14:6:1), à l'aide d'un agent chromogène (H₂O/H₂SO₄, 1:1) par chauffage ultérieur.

2.2. Matériel végétal

Les feuilles de *Z. mauritiana* ont été récoltées en avril 2017 à Sinfra (6°37' N, 5° 16' O), à l'Ouest de la Côte d'Ivoire, et identifiées par les experts du Centre National de Floristique de l'Université Félix HOUPOUËTBOIGNY, Abidjan-Cocody. Un spécimen (SSC N°1) a été déposé au Centre National de Floristique.

2.3. Extraction et isolement

Des feuilles séchées et réduites en poudre (500 g) de *Ziziphus mauritiana* ont été extraites successivement au Soxhlet avec des solvants par polarité croissante (CHCl₃, MeOH). L'extrait MeOH (5 g) a été séparé par une chromatographie flash sur gel de silice avec comme éluant CHCl₃/MeOH/H₂O (9:1:0 à 0:0:10, 3L chacun), pour donner cinq fractions (S₁-S₅). La fraction S₃ (82,3 mg) a été purifiée par chromatographie flash sur RP-18, élue avec H₂O/CH₃CN (9:1 à 1:9, en 30 min) pour obtenir trois sous-fractions (A₁-A₃). La purification par CLHP semi-préparative de la sous-fraction A₁ (38,6 mg) conduit au composé **9** (2,2 mg). La fraction S₄ (1621,3 mg) a été purifiée par CLHP préparative sur RP-18 (12 µm), élue par un système de gradient de 20 à 30 % de CH₃CN dans H₂O pendant 60 min, pour obtenir les composés **2** (120,4 mg), **3** (17,2 mg), **5 + 6** (53,2 mg) et **7** (9,3 mg). La fraction S₅ (1588,5 mg) a été purifiée par CLHP préparative sur RP-18 (12 µm), élue par un système de gradient de 20 à 30 % de CH₃CN dans H₂O pendant 45 min, pour donner cinq sous-fractions (B₁-B₅). La sous-fraction B₄ (308,2 mg) a été purifiée par chromatographie flash sur gel de silice, élue avec CHCl₃/MeOH/H₂O (8:2:0 à 14:6:1), pour donner trois sous-fractions (C₁-C₃). La sous-fraction C₂ (161,2 mg) a été purifiée par CLHP semi-préparative en utilisant un gradient de 27 à 45 % de CH₃CN dans H₂O pendant 10 min, puis une élution isocratique à 45 % de CH₃CN pendant 20 min pour donner 1,2 mg du composé **1** (Tr = 29,5 min). La sous-fraction B₃ (97,2 mg) a été soumise à une chromatographie flash sur gel de silice, élue avec CHCl₃/MeOH/H₂O (7:3:0 à 14:6:1) en 35 min, pour donner le composé **10** (14,1 mg) et quatre sous-fractions (D₁-D₄). La sous-fraction D₃ (18,5 mg) a été purifiée par CLHP semi-préparative en utilisant un gradient de 27 à 45 % de CH₃CN dans H₂O pendant 10 min, puis une élution isocratique à 45 % CH₃CN pendant 22 min pour donner 2,0 mg du composé **4** (Tr = 15,5 min) et 3,7 mg de composé **8** (Tr = 26,2 min).

3. Résultats et discussion

L'extrait MeOH des feuilles séchées et réduites en poudre de *Z. mauritiana* a été soumis à une chromatographie sur colonne de gel de silice et à une CLHP préparative pour obtenir trois saponines triterpéniques (**1-3**) parmi lesquelles le composé **1** (**Fig. 1**) n'était pas décrit auparavant, et sept composés phénoliques (**4-10**). Leur structure a été élucidée sur la base de preuves spectroscopiques. Les saponines **2** et **3** ont été identifiées comme étant la zizyphus-saponine I [**12;13**] et le lotoside III [**14**] qui avaient été précédemment signalés des feuilles de *Z. mauritiana* [**15**] et *Z. spina-christi*, respectivement. Les composés phénoliques (**4-10**) ont été identifiés comme étant la quercétine 3-O-[6''-(3-hydroxy-3-méthylglutaroyl)]-β-D-glucopyranoside (**4**) [**16**], la quercétine-3-O-rubinobioside (**5**) [**17**], la quercétine-3-O-rutinoside (**6**) [**17**], quercétine-3-O-β-D-xylopyranosyl-(1→2)-α-L-rhamnopyranoside (**7**) [**18**], la quercétine-3-O-β-D-xylopyranosyl-(1→2)-α-L-rhamnopyranoside-4'-O-α-L-rhamnopyranoside (**8**) [**19**], le kaempférol-3-O-rutinoside (**9**) [**20**] et la 3',5'-di-C-β-glucosylphlorétine (**10**) [**21**].

Le composé **1** a été isolé sous forme de poudre amorphe blanche et soluble dans le méthanol. Le spectre de masse à haute résolution en IES, enregistré en mode positif, présente un pic d'ion pseudo-moléculaire [M+Na]⁺ à *m/z* 1021,4992, compatible avec la formule brute de C₅₀H₇₈O₂₀Na (calculée pour C₅₀H₇₈O₂₀Na, 1021,4984). L'ion moléculaire du composé **1** était supérieur de **86** unités de masse à celui du composé **2** (*m/z* 935,4969 [M+Na]⁺). Cette différence de masse suggérait que le composé **1** contenait un groupement malonyle. L'ion fragment à *m/z* 935,4992 [M - malonyl + Na]⁺ était caractéristique de la perte d'un ester d'acide malonique [**22**]. Les spectres de RMN ¹H et ¹³C ont montré la présence de cinq singulets de méthyle dans la région de champ élevé (δ_H 0,79, 0,85, 0,99, 1,13 et 1,15), d'un groupe 2-méthylpropényle (δ_H 1,68 et 1,72, H₃-26 et 27 ; δ_H 5,18, H-24), de deux carbones quaternaires aliphatiques oxygénés (δ_C 111,1, C-16 ; 69,2, C-20), d'un méthylène oxygéné (δ_C 66,7, C-30), d'un méthine oxygéné (δ_C 69,4, C-23), et d'un carbone quaternaire (δ_C 54,4, C-14) (**Tableau 1**). Ces données de RMN du composé **1** étaient en accord avec celles de jujubogénine [**23**]. Les corrélations ROESY entre H-17, 21-Me et H-22b, et entre H-22a et H-23 ainsi que l'amplitude de la constante de couplage entre H-13 et H-17 (J = 6,5 Hz) étaient en accord avec la configuration des cycles D-F de la jujubogénine [**24;25**]. Le faible déplacement chimique de C-3 (δ 89,3) suggérait que le composé **1** était une saponine monodesmosidique [**23**]. Le spectre de RMN ¹H du composé **1** présentait trois signaux de protons anomériques à δ_H 5,47 (1H, brs), 4,48 (1H, d, J = 7,6 Hz) et 4,37 (1H, d, J = 7,1 Hz), qui étaient liés aux carbones à δ_C 101,3, 104,3 et 105,3 dans le spectre HSQC, respectivement. Les trois systèmes de spin des sucres ont été attribués au β-glucopyranose, au 6-désoxy-α-talopyranose et à l'α-arabinopyranose, respectivement à partir des spectres ¹H-¹H-COSY et HSQC (**Tableau 1**), comme dans la zizyphus-saponine I (**2**). Le β-glucopyranose a été identifié par les valeurs de J d'environ 7 Hz des protons H-1'' à H-5'' qui ont tous montré des interactions diaxiales-trans. Le 6-désoxy-α-talopyranose a été identifié par les petites valeurs de J (brs) des protons H-1'', H-2'', H-3'' et H-4'' et la présence du signal de méthyle sous forme de doublet à δ_H 1,21 (d, J_{H-5/H-6} = 6,6 Hz) tandis que les déplacements en RMN ¹³C de C-3'' (δ_C 66,6) et C-5'' (δ_C 67,5) ont confirmé la configuration α du carbone anomérique. Enfin, l'unité α-arabinopyranose a été identifiée par les petites valeurs de J de H-3'/H-4' (d, J_{H3'/H4'} = 3,2 Hz), tandis que les déplacements chimiques en RMN ¹³C de C-3' (δ_C 84,0) et C-5' (δ_C 65,7) ont confirmé la configuration α du carbone anomérique [**12**]. Les configurations absolues de ces sucres ont été déterminées comme étant D pour le glucose et L pour l'arabinose et le 6-désoxytalose après hydrolyse acide. Dans le spectre HMBC, les signaux de proton anomère à δ_H 4,37 (ara-1), 5,47 (6-désoxy-tal-1) et 4,48 (glc-1) ont montré des pics croisés avec les signaux de carbone à δ_C 89,3 (aglycone-C -3), 73,9 (ara-C-2') et 84,0 (ara-C-3'), respectivement (**Figure 2**). Ces signaux ont fourni des preuves pour déterminer les liens entre les sucres et les aglycones. Ces liaisons ont également été confirmées par des corrélations, dans le spectre NOESY, entre H-3/ara-H-1', ara-H-2'/H-1'' et ara-H-3'/glc-H-1'''. Des signaux supplémentaires ont été détectés dans le spectre RMN ¹³C du composé **1** : un groupe méthylène (δ_H 3,77, δ_C 61,5) et des signaux attribuables aux groupes carboxyliques dans le spectre DEPT (δ_C 168,4 et 170,2) (**Tableau 1**). Par conséquent, la saponine a été estérifiée avec un groupement malonyle. Les signaux correspondant au CH₂-6 du fragment glucose (δ_H 4,55 et 4,26/ δ_C 65,0) sont apparus à champ faible par rapport à ceux du composé **2** (δ_H 3,70 et 3,85/ δ_C 62,1), et ont ainsi indiqué un attachement du fragment acyle à cette position. La saponine a ainsi été identifiée comme étant la jujubogénine 3-β-O-(6'''-Omalonyl)-β-D-glucopyranosyl-(1→3)-[6-deoxy-α-L-talopyranosyl-(1→2)]-α-L-arabinopyranoside (**1**), et a été nommée 6'''-O-malonyl-zizyphus-saponine I (**Figure 1**).

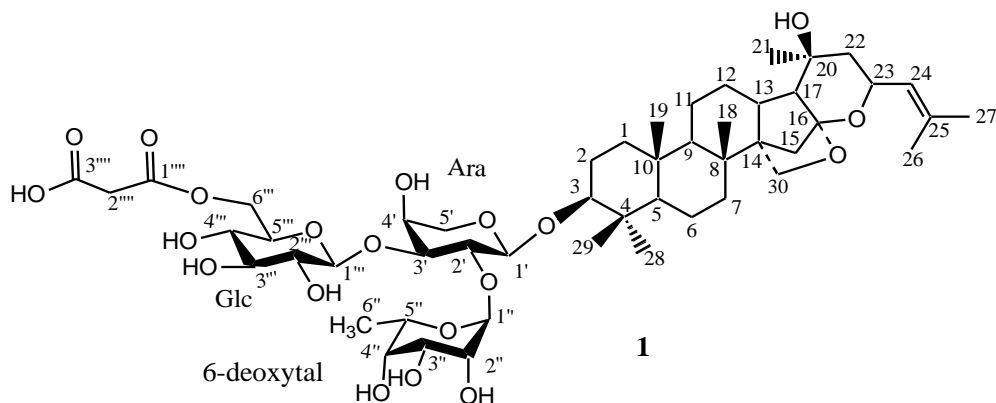


Figure 1 : Structure du composé 1

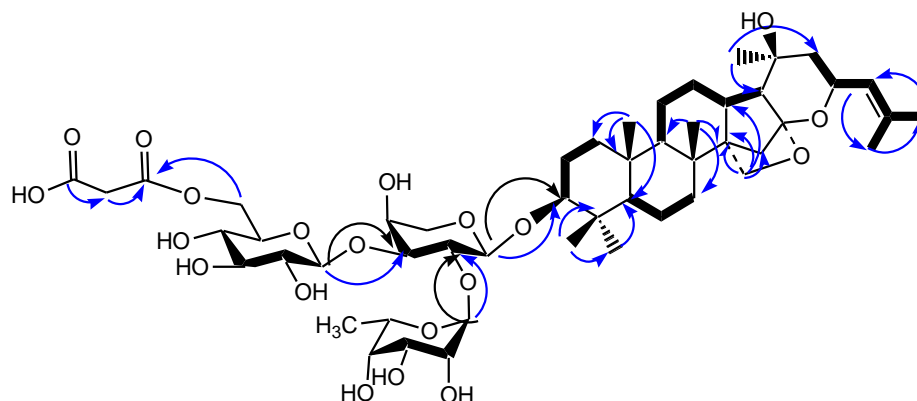


Figure 2 : Corrélations importantes en COSY (-), HMBC (->) et ROESY (->) du composé 1

Table 1: Données spectrales RMN ¹H et ¹³C du composé 1 (dans CD₃OD).

Positio n	δ_H , m (J in Hz)	δ_C	HMBC	Positio n	δ_H , m (J in Hz)	δ_C	HMBC
1	0.96, m; 1.68 m	39.7	C-3, C-5, C-9, C-19	α-L-arabinose			
2	1.66, m; 1.85 m	27.1	C-4, C-10	1'	4.37, d (7.1)	105.3	C-3', C-5', C-3
3	3.13, dd (7.3, 2.7)	89.3	C-1, C-5, C-1'	2'	3.91, dd (8.2, 7.1)	73.9	C-4', C-1''
4	-	40.2	-	3'	3.81, dd (8.2, 3.2)	84.0	C-1'', C-5'', C-1''''
5	0.75, d (9.5)	57.2	C-1, C-3, C-28, C-29	4'	4.02, m	69.2	C-2'
6	1.55, m	18.8	C-4, C-8, C-10	5'	3.51, m; 3.91, m	65.7	C-1', C-3'
7	1.50, m	36.6	C-5, C-9, C-14, C-18	6-deoxy-α-L-talose			
8	-	38.2	-	1''	5.47, brs	101.3	C-2'', C-3'', C-5''
9	0.87, m	53.9	C-1, C-5, C-7, C-12, C-14, C-18, C-19	2''	3.86, brs	70.8	C-4''
10	-	38.0	-	3''	3.89, brs	66.6	C-1'', C-5''
11	1.48, m; 1.64 m	22.3	C-8, C-10, C-13	4''	3.62, brs	73.3	C-2'', C-6''
12	1.69, m; 1.86 m	28.9	C-9, C-14, C-17	5''	4.29, q (6.6)	67.5	C-1'', C-3''
13	2.48, m	37.7	C-8, C-15, C-16	6''	1.21, d (6.6)	16.6	C-4''
14	-	54.4	-	β-D-glucose			
15	1.21, m; 2.08, d (8.9)	36.9	C-8, C-13, C-17, C-30	1'''	4.48, d (7.6)	104.3	C-3''', C-5''', C-3'
16	-	111.1	-	2'''	3.3,3 dd (9.0, 7.6)	74.4	C-4'''
17	1.03, d (6.5)	54.0	C-12, C-14, C-15, C-21, C-22	3'''	3.39, t (9.0)	77.6	C-1''', C-5''''
18	1.13, s	19.1	C-9, C-7, C-14	4'''	3.33, m	71.2	C-2''', C-6'''
19	0.85, s	16.8	C-1, C-5, C-9	5'''	3.53, m	75.1	C-1''', C-3'''
20	-	69.2	-	6'''	4.26, dd (11.2, 5.3) 4.55 dd (11.2, 1.8)	65.0	C-4''', C-1''''

21	1.15, s	29.5	C-17, C-22	Ester d'acide malonique		
22	1.40, m; 1.48, d (12.6)	45.1	C-17, C-21, C-24	1''''	-	168.
23	4.69, brt (9.7)	69.4	C-16, C-20, C-25	2''''	3.77 m	4
24	5.18, d (9.3)	125.9	C-22, C-26, C-27	3''''	-	61.5 C-1''''', C-3'''''
25	-	136.5	-			170.
26	1.72, s	25.8	C-24, C-27			2
27	1.68, s	18.4	C-24, C-26			
28	0.99, s	28.2	C-3, C-5, C-29			
29	0.79, s	16.9	C-3, C-5, C-28			
30	3.94, d (7.4); 4.02 m	66.7	C-8, C-13, C-15, C-16			

4. Conclusion

L'étude chimique des feuilles de *Ziziphus mauritiana*, récoltée dans la zone forestière de la Côte d'Ivoire, a permis d'isoler et de caractériser trois saponines, six flavonoïdes et un polyphénol glycosylé. Un d'entre eux est de structure nouvelle, la 6"-O-malonyl-zizyphus-saponine I, et les neuf autres de structures déjà connues de la littérature. A l'issue de ce travail, plusieurs perspectives peuvent être envisagées : l'évaluation de l'activité antidiabétique et de la toxicité des composés isolés, particulièrement la nouvelle saponine, afin d'établir leur rôle dans l'utilisation des feuilles de *Ziziphus mauritiana* comme antidiabétique en Afrique sud sahélienne, et l'élargissement de l'étude aux autres organes de l'espèce forestière qui pourrait permettre de justifier ses nombreuses utilisations dans la pharmacopée traditionnelle ivoirienne

5. References

- [1]- Y.B.N. Fofie, K. Coulibaly, K. Traore, E. Odoh, G.N. Zihiri, D. Kone-Bamba, Pharmacognostic study of *Ziziphus mauritiana* LAM. (Rhamnaceae). *Int. J. Pharmacognosy* (2018) 5(6), 354-359.
- [2]- M.P. Sivasankari, A. Sankaravdivoo, Leaf anatomical studies of *Ziziphus mauritiana* Lam. *Int. J. Curr. Res. Biosci. Plantbiol.* (2017) 4(8), 73-79.
- [3]- J.A. Carol, H.P. Jignesh, J.P. Anar, A.P. Mayuree, Plant review on *Ziziphus mauritiana*. *Int. J. Univers. Pharm. Life Sci.* (2012) 2(2), 202-211.
- [4]- D. Adama, S. Yacouba, H. Mahamane, T. Adiaratou, S. Rokia, D. Drissa, P.G. Innocent, Activité antidiabétique des racines de *Ziziphus mauritiana* Lam (Rhamnaceae) et des feuilles de *Ziziphus mucronata* Willd (Rhamnaceae) chez le lapin. *Int. J. Multidiscip. Res. Dev.* (2016) 3(6), 24-26.
- [5]- M.K. Gupta, A.K. Bhandari, R.K. Singh, Pharmacognostical evaluation of the leaves of *Ziziphus mauritiana*. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* (2012) 3(3), 818-821.
- [6]- A.A. Ghasham, M., Al Muzaini, K.A. Qureshi, G.O. Elhassan, R.A. Khan, S.A. Farhana, S. Hashmi, .E. El-Agamy W. Abdallah, Phytochemical Screening, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Methanolic Extract of *Ziziphus mauritiana* Lam. Leaves Collected from Unaizah, Saudi Arabia. *Int. J. Pharm. Res. Allied Sc.* (2017) 6(3), 33-46.
- [7]- A. Ashraf, R.A. Sarfraz, F. Anwar, S.A. Shahid, K.M. Alkharfy, Chemical composition and biological activities of leaves of *Ziziphus mauritiana* L. native to Pakistan. *Pak. J. Bot.* (2015) 47 (1), 367-376.
- [8]- M.P. Sivasankari, A. Sankaravdivoo, Studies on antimicrobial activity on *Ziziphus mauritiana* Lam. *Int. J. Ayurv. Pharma Res.* (2015) 3(7), 52-55.
- [9]- R.M. Kumar, N. Gayatri, T. Sivasudha, K. Ruckmani, Profiling of bioactive components present in *Ziziphus mauritiana* Lam (Rhamnaceae) for *in vitro* antioxidant and *in vivo* antiinflammatory activities., *Int. Res. J. Pharm. Pharmacol.* (2017) 8 (9), 19-24.
- [10]- D.S.D. Attemene, S. Beourou, E. Zougrou N'guessan, K. Kouame, J. DjamanAlico, S. Kati-Coulibaly, Nephrotoxicity assessment of the hydroethanolic leaf extract of *Ziziphus mauritiana* LAM (Rhamnaceae) in mammals. *Int. J. Adv. Res. Biol. Sci.* (2017) 4(7), 178-190.
- [11]- K. Dubey, R. Dubey, R.A. Gupta, A.K. Gupta, Anti-Diabetic and Antioxidant Potential of Saponin Extract of Leaves of *Ziziphus mauritiana*. *J. Drug Deliv. Ther.* (2019) 9(2-A), 75-77.
- [12]- N. Okamura, T. Nohara, A. Yagi, I. Nishioka, Studies on the constituents of *Zizyphi fructus*. III. Structures of dammarane-type saponins. *Chem. Pharm. Bull.* (1981) 29, 676-683.
- [13]- K. Yoshikawa, N. Shimono, S. Arihara, Antisweet natural products. VI. Jujubasaponins IV, V and VI from *Ziziphus jujuba* Mill. *Chem. Pharm. Bull.* (1992) 40(9), 2275- 2278.
- [14]- A. Bozicevic, M. De Mieri, A. Di Benedetto, M. Hamburger. Dammarane-type saponins from leaves of *Ziziphus spinachristi*. *Phytochemistry* (2017) 138, 134-144.
- [15]- S.C. Sharma, R. Kumar, Constituents from leaves of *Ziziphus mauritiana* Lam *Pharmazie* (1982) 37(11), 809-810.
- [16]- T. Iwashina, Y. Omori, J. Kitajima, S. Akiyama, T. Suzuki, H. Ohba, Flavonoids in translucent bracts of the Himalayan *Rheum nobile* (Polygonaceae) as ultraviolet shields. *J. Plant Res.* (2004) 117, 101-107.
- [17]- L. Rastrelli, P. Saturnino, O. Schettino, A. Dini, Studies on the constituents of *Chenopodium pallidicaule* (Canihua) seeds. Isolation and characterization of two new flavonol glycosides. *J. Agric. Food Chem.* (1995) 43(8), 2020-2024.

Conceptualisation, synthèse et évaluation de l'activité antibactérienne de dérivés du 2-thiobenzylméthyl-1H-benzimidazole

MOLOU Kouassi Yves Guillaume^{1,2}, ACHI Patrick-Armand², COULIBALI Siomenan²

1. Ecole Normale Supérieure d'Abidjan Côte d'Ivoire, 08 BP 10 Abidjan 08

2. Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière, UFR Sciences des Structures de la Matière et Technologie, Université Félix Houphouët Boigny de Cocody, 22 BP582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

Corresponding authors: moloukouassi@yahoo.fr

Résumé : Le noyau benzimidazole est un excellent pharmacophore qui présente un intérêt particulier en chimie médicinale. Les variations structurales autour de ce noyau ont conduit à de nombreux dérivés possédant des propriétés multiples notamment antioxydante, antimicrobienne, antivirale, anti inflammatoire et anticancéreuse. L'objectif de ce travail est de synthétiser de nouveaux dérivés du benzimidazole porteurs en position-2 de l'enchaînement méthylthiobenzyle et d'évaluer leur activité antibactérienne. L'originalité de ce travail réside en l'insertion du méthylène entre le carbone C-2 du benzimidazole et l'atome de soufre. Ainsi, nous avons réalisé des 2-((benzylthio) méthyl)-1H- benzimidazoles, en élaborant d'abord des sels d'isothiouronium-1H-benzimidazole à partir du 2-chlorméthylbenzimidazole, qui ont été ensuite condensés avec divers halogénures de benzyle. L'activité antibactérienne a été évaluée par la méthode de diffusion de disque sur deux souches bactériennes à savoir *S. aureus* et *E. coli*. Les tests de sensibilité sur *S. aureus* ont montré que six composés présentent une activité antibactérienne significative avec des diamètres d'inhibition compris entre 9 et 13 mm pour des concentrations inhibitrices allant de 300 à 410 µg/mL contre trois composés sur *E. coli*. Nous envisageons introduire des groupements benzyles ou alkyles sur l'azote en position-1 des différents composés pour optimiser l'activité antibactérienne.

Mots clés : Benzimidazole, halogénure de benzyle, activité antibactérienne, molécules bioactives.

Design, synthesis and evaluation of the antibacterial activities of 2-thiomethylbenzimidazole derivatives

Abstract: The benzimidazole ring is an excellent pharmacophore which is of particular interest in medicinal chemistry. Structural variations around this nucleus have led to many derivatives with multiple properties including antioxidant, antimicrobial, antiviral, anti-inflammatory and anti-cancer. The objective of this work is to synthesize new benzimidazole derivatives carrying the 2-position of the methylthiobenzyl chain and to evaluate their antibacterial activity. The originality of this work lies in the insertion of methylene between the C-2 carbon of benzimidazole and the sulfur atom. Thus, we made 2-((benzylthio)methyl)-1H-benzimidazoles, by first making isothiouronium-1H-benzimidazole salts from 2-chlormethylbenzimidazole, which were then condensed with various benzyl halide. The antibacterial activity was evaluated by the disk diffusion method on two bacterial strains namely *S. aureus* and *E. coli*. Susceptibility tests on *S. aureus* showed that six compounds show significant antibacterial activity with inhibition diameters between 9 and 13 mm for inhibitory concentrations ranging from 300 to 410 µg/mL against three compounds on *E. coli*. We plan to introduce benzyl or alkyl groups on the nitrogen in position-1 of the various compounds to optimize the antibacterial activities.

Keywords: Benzimidazole; drug, infectious diseases, bioactive molecules.

1- INTRODUCTION

Le noyau du benzimidazole est une structure importante dans l'élaboration de molécules bioactives. Il est un excellent pharmacophore dans la découverte de médicaments et fait l'objet d'un intérêt particulier en chimie médicinale. En effet, une variété de dérivés de benzimidazole est disponible sur le marché, tels que le thiabendazole et le flubendazole (anthelminthique), l'oméprazole et le lansoprazole (antiulcéreux) et l'astémizole (antihistaminique). Les variations structurales autour de ce noyau ont conduit à nombreux dérivés possédant des propriétés multiples notamment antioxydante [1], antimicrobienne [2,3], antivirale [4], anti inflammatoire [5] et anticancéreuse [6]. Parmi les variations structurales, celle portant sur la substitution des positions -1 et -2 permettent une bonne optimisation des activités biologiques [7-10]. Nous nous sommes proposés de synthétiser de nouveaux dérivés du benzimidazole porteurs en position-2 de l'enchaînement méthylthiobenzyle. L'originalité de notre travail résidait dans l'introduction du groupe méthylène entre le carbone C-2 du benzimidazole et le soufre atome. L'évaluation antimicrobienne in vitro des composés obtenus a été menée également. Une étude de relation activité a été menée.

2- Matériel et méthodes

2-1-Matériel

2-1-1-Matériel Chimique

Le matériel utilisé pour la synthèse des molécules est composé entre autres de réfrigérant, d'agitateur magnétique chauffant, de barreau aimanté, d'évaporateur rotatif (rotavapor), de balance de précision et de la verrerie usuelle de laboratoire.

Le suivi des réactions et la vérification de la pureté des produits synthétisés ont été fait par Chromatographie sur Couches Minces (CCM) de silice sur aluminium (plaques commerciales Merck Kieselgel 60 F254, épaisseur de silice : 0,2 mm).

Les plaques CCM ont été révélées à l'UV 253 nm, 365 nm et par fluorescence au permanganate de potassium.

La purification des produits a été réalisée par chromatographie sur gel de silice 60 (0,063-0,200 mm).

Les points de fusion ont été pris sur un banc de KÖFLER.

Les spectres de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) du proton ¹H et ¹³C ont été enregistrés sur un appareil Bruker avance 300, le Tétraméthylsilane (TMS) est utilisé comme référence des déplacements chimiques exprimés en ppm.

Les spectres de masse haute résolution ont été mesurés par un analyseur en mode électrospray (ESI) sur une masse LC-MSD TOF.

2-1-2- Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé pour l'évaluation de l'activité antibactérienne des composés est constitué de deux souches de bactéries (*E. coli* 2279C2021 et *S. aureus* 2275C2021). Ces souches ont été fournies par le Laboratoire de microbiologie du Centre National de Floristique (CNF) de l'Université Felix Houphouët Boigny de Cocody.

2-2-Méthode

2-2-1- Méthode chimique

La méthodologie utilisée est de synthétiser d'abord des 2-chlorométhyles, ensuite des sels d'isothiuronium-1*H*-benzimidazole, enfin d'accéder aux 2-((benzylthio) méthyl)-1*H*- benzimidazole et dérivés

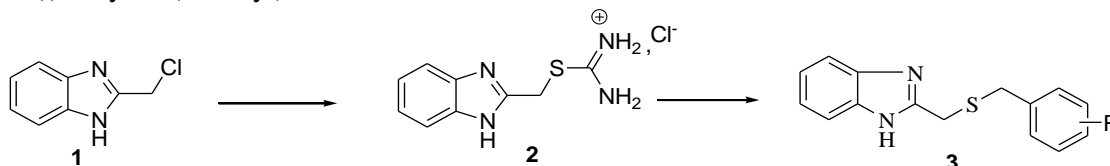
2-2-2- Méthode biologique

L'évaluation de l'activité antibactérienne a été réalisée par la méthode de diffusion de disque.

Une solution mère du composé chimique a été préparée par dissolution d'une quantité de poudre de chaque composé de synthèse dans un volume d'un mélange DMSO / eau distillée (50/50 v/v). A partir de cette solution mère deux dilutions successives ont été réalisées pour obtenir deux concentrations différentes.

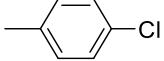
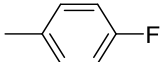
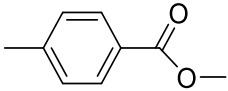
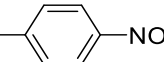
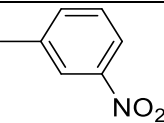
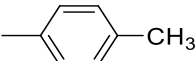
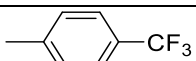
3- Résultats et discussion

Les 2-((benzylthio) méthyl)-1*H*- benzimidazole ont été élaborés selon le schéma suivant :



Le 2-chlorométhyl-1*H*-benzimidazole réagit avec la thiourée à reflux dans l'acétonitrile pendant une heure trente minutes (1h 30 mn) pour donner le sel d'isothiuronium-1*H*-benzimidazole avec des rendements respectifs de 89%. Le sel d'isothiuronium-1*H*-benzimidazole traité avec les halogénures de benzyle en présence d'une solution aqueuse de soude (NaOH) dans l'éthanol à reflux conduit aux 2-((benzylthio) méthyl)-1*H*-benzimidazoles.

Composés	R	R1	Rdt (%)	δ (ppm)
3a	H		53	3,93 (s, 2H) 3,71 (s, 2H)

3b	H		59	3,92 (s, 2H) 3,66 (s, 2H)
3c	H		76	3,93 (s, 2H) 3,66 (s, 2H)
3d	H		61	3,92 (s, 2H) 3,73 (s, 2H)
3e	H		55	3,93 (s, 2H) 3,76 (s, 2H)
3f	H		68	3,95 (s, 2H), 3,76 (s, 2H).
3g	H		89	3,93 (s, 2H), 3,68 (s, 2H),
3h	H		64	3,93 (s, 2H), 3,73 (s, 2H).

L'analyse des résultats des tests de sensibilité sur *S. aureus* a montré que six (**5**) composés dérivés du 2-benzylthiométhyl-1*H*-benzimidazole **9b**, **9d**, **9e**, **9f**, **9g** ont présenté une activité antibactérienne significative avec des diamètres d'inhibition compris entre 9 et 13 mm pour des concentrations inhibitrices allant de 300 à 410 µg/mL. Avec une concentration inhibitrice de 300 µg/mL, les composés **9b**, **9d** et **9g** se sont montrés plus actifs avec les diamètres d'inhibition respectifs de 13, 12 et 12 mm. Quant à la souche bactérienne *E. coli*, sur les 10 dérivés testés, trois 2 dérivés **9b**, **9h** ont présenté une sensibilité avec des diamètres d'inhibition compris entre 10 et 11 mm pour des concentrations inhibitrices allant de 300 à 410 µg/mL.

Composés	C 1 (µg/mL)	C 2 (µg/mL)	<i>S. aureus</i> 2275C2021		<i>E. coli</i> 2279C2021	
			C1	C 2	C 1	C 2
			Diamètre (mm)	Diamètre (mm)	Diamètre (mm)	Diamètre (mm)
3a	600	300	6	6	6	6
3b	600	300	14	13	12	10
3c	820	410	9	ND	6	6
3d	600	300	13	12	6	6
3e	600	300	10	10	10	6
9f	600	300	10	9	6	6
9g	600	300	14	12	10	ND
9h	600	300	6	6	12	10

4- Conclusion

Ce travail a permis d'accéder à 9 composés dont six ont montré une bonne activité antibactérienne. Ces composés ont été obtenus en introduisant le groupement méthylthiobenzyle en position -2 du benzimidazole par l'intermédiaire du 2-((1*H*-benzimidazol-2-yl) méthyl) isothiuronium. La fixation du groupement chloro (Cl) en position -4 du benzyle a amélioré l'activité sur *E. coli*.

Bibliographie

- [1] Kuş, C., Ayhan-Kılıçgil, G., Eke, B. C., Işcan, M. Synthesis and Antioxidant Properties of Some Novel Benzimidazole Derivatives on Lipid Peroxidation in the Rat Liver. *Arch. Pharm. Res.*, **2004**, 27(2), 156-163, 2004.
- [2] Pawar, N.S., Dalal, D.S., Shimpi, S.R., Mahulikar, P.P. Studies of antimicrobial activity of *N*-alkyl and *N*-acyl 2-(4-thiazolyl)-1*H*-benzimidazoles. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **2004**, 21, 115–118.
- [3] Özden, S., Atabey, D., Yıldız, S., Göker, H. Synthesis and potent antimicrobial activity of some novel methyl or ethyl 1*H*-benzimidazole-5-carboxylates derivatives carrying amide or amidine groups. *Bioorg. Med. Chem.*, **2005**, 13, 1587–1597.
- [4] Tonelli, M., Simone, M., Tasso, B., Novelli, F., Boido, V., Sparatore, F., Paglietti, G., Pricl, S., Giliberti, G., Blois, S., Ibba, C., Sanna, G., Loddo, R., La Colla, P. Antiviral activity of benzimidazole derivatives. II. Antiviral activity of 2-phenylbenzimidazole derivatives. *Bioorg. Med. Chem.*, **2010**, 18, 2937–2953.
- [5].Achar, K. C.S., Hosamani, K. M., Seetharamareddy, H. R. In-vivo analgesic and anti-inflammatory activities of newly synthesized benzimidazole derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2010**, 45, 2048–2054.
- [6] Repicky, A., Jantova, S., Cipak, L. Apoptosis induced by 2-acetyl-3-(6-methoxybenzothiazol-2-yl)-aminoacrylonitrile in human leukemia cells involves ROS-mitochondrial mediated death signaling and activation of p38 MAPK. *Cancer Letters* **2009**, 277, 55–63.
- [7] Powers, J. P., Li, S., Jaen, J. C., Liu, J., Walker, N. P. C., Wang, Z., Wesche, H. Discovery and initial SAR of inhibitors of interleukin-1 receptor-associated kinase-4. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, 16 2842–2845.
- [8] Castelli, M., Malagoli, M., Lupo, L., Riccomi, T. R., Casolari, C., Cermelli, C., Zanca, A., Baggio, G. Antiviral and Antiproliferative Activity *in vitro* of some New Benzimidazole Derivatives. *Pharmacology & Toxicology*, **2001**, 88, 67–74.
- [9] Ayhan-Kılıçgil, G., Altanlar, N. Synthesis and Antimicrobial Activity of Some New Benzimidazole Derivatives. *Il Farmaco*, **2003**, 58, 1345-1350
- [10] Nakano, H., Inoue, T., Kawasaki, N., Miyataka, H., Matsumoto, H., Taguchi, T. Inagaki, N., Nagai, H., Satoh, T. Synthesis of benzimidazole derivatives as antiallergic agents with 5-lipoxygenase inhibiting action. *Chem. Pharm. Bull.*; **1999**, 47(11), 1573-1578.

Activité antiradicalaire d'une crème corporelle formulée à base de l'amande de la noix de cajou

Touré Abdoulaye¹, Guehi Monnou Sophie¹, Kablan Richmond Jean-François², Boni Ahoussi Pascal¹, Kabran Aka Faustin³, Touré Daouda¹, Konan Dibi Jacques³, Ballo Daouda³, Kablan Ahmont Landry Claude^{1,3}, Attioua Koffi Barthélemy³, Soro Yadé René¹

¹Laboratoire de Biotechnologie, Valorisation des agroressources et substances naturelles, UFR Sciences Biologiques, Université Peleforo GON COULIBALY, Korhogo, Côte d'Ivoire

²Laboratoire COVACHIM-M2E EA 3592, Université des Antilles, Campus de Fouillole, UFR SEN, Département de Chimie, B.P. 250, 97157 Pointe-à-Pitre Cedex

³ Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière, UFR SSMT, Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY, Abidjan, Côte d'Ivoire.

⁴Laboratoire de pharmacodynamie biochimique, UFR Biosciences, Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY, Abidjan, Côte d'Ivoire.

RESUME : La noix de cajou est utilisée pour ses activités antiradicalaire et cicatrisante. La présente étude vise à réaliser la formulation d'une crème corporelle à visée antiradicalaire. L'étude a consisté à la réalisation d'un criblage phytochimique, à l'évaluation de l'activité antiradicalaire des différents extraits et à la conception d'une formulation dans l'optique de conserver l'activité antiradicalaire observée dans le beurre et dans l'extrait actif de *Erythrophleum suaveolens*. La Chromatographie sur Couche Mince et les réactions en tube ont été utilisées pour le criblage phytochimique. L'évaluation de l'activité antiradicalaire des différents extraits et des formulations obtenues a été réalisée par la méthode de DPPH sur couche mince et par spectrophotométrie. Le criblage phytochimique a révélé la présence d'alkaloïdes et de polyphénols. L'évaluation de l'activité antiradicalaire montre que l'amande de la noix de cajou possède une activité antiradicalaire. La formulation réalisée à partir de l'amande de cajou et de l'extrait actif de plante possède une activité antiradicalaire meilleure que celle réalisée avec l'amande de la noix. L'ajout de l'extrait actif à la formulation améliore son activité antiradicalaire. Nous envisageons augmenter la concentration de l'extrait actif afin d'obtenir une formulation plus active.

Mots clés : noix de cajou; formulation; antiradicalaire

Cashew nuts are used for their anti-free radical and healing activities. The present study aims at formulating a body cream with anti-free radical activity. The study consisted of phytochemical screening, evaluation of the anti-free radical activity of the different extracts and the design of a formulation with a view to preserving the anti-free radical activity observed in the butter and in the active extract of *Erythrophleum suaveolens*. Thin layer chromatography and tube reactions were used for phytochemical screening. The evaluation of the antiradical activity of the different extracts and formulations obtained was performed by thin layer DPPH and spectrophotometric methods. The phytochemical screening revealed the presence of alkaloids and polyphenols. The evaluation of the free radical scavenging activity shows that cashew kernel has free radical scavenging activity. The formulation made from the cashew nut kernel and the active plant extract has a better antiradical activity than the one made with the nut kernel. The addition of the active extract to the formulation improves its anti-free radical activity. We plan to increase the concentration of the active extract in order to obtain a more active formulation.

Key words: cashew nut, formulation, antiradical

INTRODUCTION

Les hommes utilisent depuis plusieurs millénaires diverses ressources végétales pour assurer leurs besoins médicaux et alimentaires [1]. L'une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles actives très diversifiées telles que : les glucides, les protéines, les lipides et les acides nucléiques. Outre ces métabolites primaires classiques, les végétaux fournissent des métabolites secondaires dont leur fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais représente une source importante de molécules utilisables par l'Homme dans les domaines pharmacologiques et alimentaires [2]. Une grande partie de l'intérêt des recherches scientifiques actuelles porte sur l'étude de molécules antioxydantes naturelles qui agissent comme capteurs de radicaux libres. Ce sont des composés très réactifs comportant un électron célibataire et nécessaires à des mécanismes vitaux. Outre leur intérêt dans le traitement de certaines pathologies, les composés antioxydants sont aussi utilisés pour la conservation des denrées comestibles pour l'industrie

agroalimentaire (par exemple empêcher l'oxydation des lipides) [3]. Au cours de ces dernières années, les antioxydants commerciaux utilisés étaient des antioxydants synthétiques tels que le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène (BHT), le tertibutylhydroquinone (TBHQ) et le propylgallate (PG). Par contre, certains auteurs ont suspecté que ces molécules possèdent une certaine toxicité. Ils pourraient être responsables de dommages causés dans le foie et de carcinogénèse [4] d'où l'intérêt de s'orienter vers des espèces végétales de Côte d'Ivoire. L'anacardier (*Anacardium occidentale* L.), est une plante tropicale de la famille des Anacardiaceae [5]. Il est originaire d'Amérique du sud, plus précisément des côtes brésiliennes. Il a été introduit dans le nord de la Côte d'Ivoire dans le but de freiner la déforestation et de lutter contre les érosions des sols dans les années 1960 [7]. Il fournit des produits tels que la pomme de cajou, la noix de cajou et le baume de cajou à partir de la coque des noix [8]. En Côte d'Ivoire, la noix de cajou représente le troisième produit agricole d'exportation après le cacao et le caoutchouc [9]. L'amande est caractérisée par sa richesse en acide gras essentiels notamment en acide linoléique et oléique représentant respectivement 20% et 60 % de la matière grasse. Elle est également riche en protéines et possède une composition en acides aminés semblable à celle de la graine de soja [10]. En dépit de cette production énorme de la noix de cajou, peu de données scientifiques sur le profil phytochimique, l'activité antioxydante et les formulations réalisées à partir des amandes de noix de cajou produites en Côte d'Ivoire existent dans la littérature. L'objectif de cette étude est de contribuer à la valorisation des amandes de noix de cajou en formulant une crème corporelle à partir de l'amande de la noix de cajou et d'un extrait actif de *Erythrophleum suaveolens* (antioxydant et antimycobactérien).

Il s'agira donc dans ce travail d'identifier les familles de composés chimiques, d'évaluer l'activité antioxydante des extraits issus des amandes de noix cajou et de la crème réalisée à partir de l'association du beurre de *Anacardium occidentale* et de *Erythrophleum suaveolens*.

MATERIEL ET METHODES

1-Matériel

1-1-Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué des noix de cajou (*Anacardium occidentale* L.) récoltées dans trois (3) villages (Lénivogo, Logokaha et Dorkaha) de la commune de Korhogo région de Poro (Nord de la Côte d'Ivoire).

1-2-Réactifs chimiques

Les produits chimiques analytiques utilisés dans ce travail sont constitués de réactifs et de solvants. Les solvants (d'extraction et d'élution), constitués de l'eau distillée 100% (aqueux), du mélange binaire hydro-éthanolique (7/3 vv), le méthanol (100%) (MeOH/100), le dichlorométhane (100 %) (DCM/100) et l'acétate d'éthyle (100%) (AcOEt/100) proviennent de Sharlau. Les réactifs sont composés de Dragendorff, de chlorure de fer (FeCl_3), de vanilline sulfurique et de DPPH ($\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_6$).

2. Méthodes

2-1-Traitement des échantillons : Les noix récoltées ont été séchées séparément, une partie à l'étuve pendant trois (3) jours à 50°C et l'autre partie au soleil pendant sept (7) jours à une température moyenne de 30°C. Après avoir décortiquées les noix séchées, l'amande a été broyée à l'aide d'un moulin électrique Touch's. Le broyat est conservé dans des bocaux en plastique hermétiquement fermés.



Figure 1 : La noix de cajou (a : non décortiquée ; b : amande de la noix décortiquée)

2-2-Préparation des extraits : les extraits ont été préparés à 10% en raison de 1g de matière par 10 mL de solvant. 2g du broyat de chaque échantillon ont été macérés dans 20 mL de différents solvants (eau 100% ; éthanol-eau : 70%/30% v/v ; éthanol 100%, Dichlorométhane 100%, Hexane 100%, méthanol 100%) pendant 24 h à température ambiante du laboratoire. Après filtration sur coton hydrophile du surnageant, les filtrats sont réunis puis étuvés à 50°C pendant 72 heures (3 jours) pour obtenir nos différents extraits secs (aqueux, hydro-éthanolique, éthanolique, chlorométhylénique, Hexanique, méthanolique).

Les rendements ont été calculés grâce à la formule suivante :

$$R (\%) = (m / M) \times 100$$

M : masse de l'extrait (g) ;

m : masse de l'extrait sec obtenu (g)

2-3-Détermination des paramètres phytochimiques : les composés phytochimiques ont été détectés selon différentes méthodes : Concernant les alcaloïdes, polyphénols et anthraquinones la méthode de [11] a été utilisée avec différents réactifs. En effet deux (2) mg d'extrait sont dissouts dans 2 mL d'éthanol. Après agitation, 2 gouttes de chaque réactif (Dragendorff ou hydroxyde de sodium (NaOH) ou trichlorure de fer (FeCl₃)) sont ajoutées. La présence de coloration orange caractérise les alcaloïdes, la coloration rose-violette ou rouge indique la présence d'anthraquinones libre et la coloration rouge ou bleu noirâtre indique présence de composés polyphénoliques.

Les flavonoïdes ont été détectés selon [12] en délayant deux (2) mg de l'extrait dans 2 mL d'éthanol puis 2 à 3 gouttes d'une solution de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) à 1%. L'apparition d'une couleur jaune verte indique la présence des flavonoïdes.

S'agissant des tanins, dans les tubes à essai deux (2) mg de chaque extrait ont été dissouts dans 2 mL d'alcool (EtOH) et 1 mL de réactif de Stiasny a été ajouté. Après homogénéisation les tubes sont portés au bainmarie (80°C pendant 30 min). La formation d'un précipité dans les tubes révèle la présence de tanins galliques selon [13].

Pour détecter les saponines la méthode de [14] a été utilisée. Dans des tubes à essai contenant 5 mL d'eau distillée, nous avons introduit 1g de nos différents extraits puis avons agité vigoureusement. La formation d'une mousse (hauteur supérieur de 1cm) stable, persistant pendant 15 min, indique la présence de saponines.

2-4-Analyse par Chromatographie sur Couche Mince (CCM) des extraits

Ce test réalisé suivant la méthode de [15] concerne le screening phytochimique ainsi que l'activité antiradicalaire avec quelques modifications. En effet, nous avons utilisé une plaque CCM d'aluminium contenant le gel de silice (phase stationnaire) sur laquelle nous avons tracé une ligne de départ (dépôt) et une ligne de front. A l'aide d'un tube capillaire, nous avons déposé quelques gouttes de nos extraits

sur la plaque. Les gouttes sont ensuite séchées à l'air libre. Puis, nous avons préparé la phase mobile (éluant) en utilisant 3 solvants : (MeOH 100 %, EtOH 100 % et DCM 100 %). Ces solvants sont mis dans une cuve à chromatographie. Ensuite, suit l'introduction des plaques CCM dans la cuve. Celle-ci est fermée hermétiquement pour éviter l'évaporation du solvant. Une fois l'éluant atteint la ligne de front, nous avons retiré les plaques CCM puis les avons séchées à l'air libre. Elles sont ensuite révélées grâce aux réactifs spécifiques servant à identifier les composés organiques.

2-5-Evaluation du pouvoir antiradicalaire par spectrophotométrie : La mesure de l'activité antiradicalaire effectuée par le test au 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) selon la méthode de [16] concerne les extraits et l'échantillon de la crème formulée. Après préparation du DPPH dans méthanol à 0,1 mg/mL de concentration, 2 mg de l'extrait sec de chaque échantillon a été dissout dans 4 mL de méthanol pour obtenir une solution mère (0,5 mg/mL). Ensuite, une dilution en cascade ou gamme de dilution est réalisée. Puis deux (2) mL de la solution méthanolique de DPPH sont ajoutés dans chaque tube. Après une incubation de 30 min à l'obscurité et à la température du laboratoire, les absorbances ont été lues à 517 nm contre un témoin (blanc) composé de 2 mL de la solution de DPPH et de 2 mL de méthanol. Les solutions de la vitamine C et la quercétine (utilisées comme molécules de référence) ont été préparés dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons. Le pourcentage d'inhibition (I(%)) du radical DPPH a été calculé selon la formule de [17] :

$$I(\%) = (A_0 - A_1/A_0) \times 100$$

2-6-Formulation de la crème : Pour formuler notre crème, la méthode de [18] a été adoptée avec quelques modifications. Nous avons chauffé les deux phases (huileuse et aqueuse) au bain marie jusqu'à atteindre la température de 75°C. Ensuite, nous avons ajouté chaque ingrédient dans la phase où il est soluble. Lorsque la température de la phase huileuse est d'environ 70°C et que la température de la phase aqueuse est supérieure à celle-ci, nous avons procédé à l'émulsification à l'aide d'une baguette en verre : la phase aqueuse est ensuite versée lentement sous agitation manuelle à la phase huileuse maintenue dans le bain- marie ; A la fin de l'addition, la préparation était retirée du bain marie et laissée à l'air libre. L'agitation se poursuit pendant 10 minutes jusqu'au refroidissement. Enfin la préparation est homogénéisée à l'aide d'un agitateur pendant cinq (5) minutes.

2-7-Analyse statistique : Les essais ont été réalisés en triple. Les données obtenues ont été analysées à l'aide du logiciel Excel. Celui-ci a permis de déterminer les moyennes ainsi que l'écartype des différentes modalités. Quant au logiciel Graph Pad Prism 7.0 (Microsoft U.S.A), il a été utilisé pour la réalisation des représentations graphiques des données (CI₅₀) (Microsoft U.S.A).

RESULTATS ET DUSCUSSION

La figure 2 présente les différents rendements d'extraction. Les résultats montrent que les rendements des extraits varient en fonction du site et du mode de séchage. Concernant le pouvoir extractif des solvants, le solvant binaire (Ethanol/eau) a fourni les meilleurs rendements compris entre 25% et 40% pour l'échantillon séché au soleil et entre 30 % et 65 % pour l'échantillon séché à l'étuve. Tandis que le taux d'extrait secs aqueux varie de 5 % à 30 % pour l'échantillon séché au soleil et de 10% à 15% pour l'échantillon séché à l'étuve. Le rendement de l'extrait chlorométhylénique varie de 25 % à 50 % pour l'échantillon séché au soleil et de 30 % à 40 % pour l'échantillon séché à l'étuve et le taux des extraits secs hexanique varient de 25 % à 45 % pour l'échantillon séché au soleil et de 20 % à 50 % pour l'échantillon séché à l'étuve. Ces différences pourraient s'expliquer d'une part par la disponibilité de matières extractibles, d'autre part du type de solvant utilisé qui sont de polarité différente. En effet la capacité d'extraction d'un solvant dépend de sa polarité et son affinité à l'égard des phytomolécules [19]. Nous notons également que le séchage au soleil donnait les meilleurs résultats sauf pour les noix récoltées à Dorkaha. Ce qui s'expliquerait du fait que lors de l'étuvage la température dénature les molécules est un facteur selon la littérature, d'où la non disponibilité de ces molécules dans les extraits étuvés.

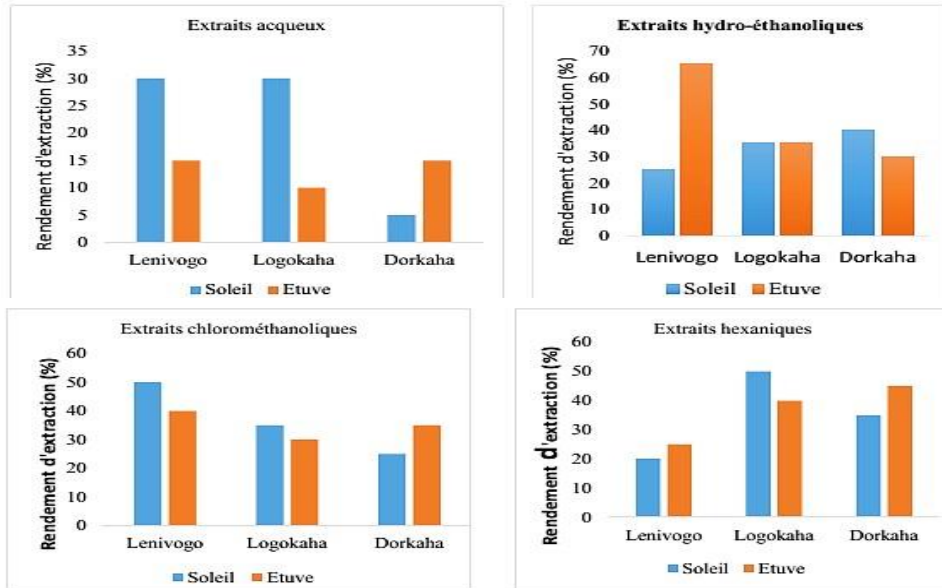


Figure 2: Rendement des différents extraits

Les tableaux I, II, III et IV relatent les phytomolécules révélées lors des tests réalisés sur CCM et en tube. Ces résultats indiquent que les alcaloïdes sont présents dans tous les extraits de l’amande. On note une abondance de composés alcaloïdiques dans l’extrait chlorométhylénique. Quant aux polyphénols, ils apparaissent sous forme de traces dans les extraits hydro éthanoliques, hexaniques et chlorométhylénique. Par contre, ils sont absents dans l’extrait aqueux. L’eau n’extrait donc pas les polyphénols présents dans l’amande de la noix de cajou. Les tanins, les flavonoïdes, les saponines et les anthraquinones n’ont pas été détecté dans tous les extraits de l’amande de la noix de cajou. Elles contiennent également des polyphénols mais en faible quantité. Ces résultats sont en accord avec ceux de la littérature qui mentionne la présence de composés phénoliques dans les amandes de noix de cajou [20]. Ces différences sur la quantité de polyphénols pourraient être dues d’une part au mode d’extraction ou au lieu géographique de récolte, d’autre part par la composition en polyphénol de l’amande. On observe néanmoins de petites différences concernant les résultats du criblage phytochimique sur plaque CCM et en tube. Cette différence pourrait s’expliquer par le fait que lors des tests réalisés sur CCM, les composés chimiques ont pu être séparés au cours de la migration du solvant. Ces composés pourront donc être mieux révélés sur plaques CCM. La différence observée peut également être due à la concentration des extraits spotés sur CCM.

Tableau I : Répartition des composés organiques présents dans l’extrait aqueux

Famille de composés	Extraits aqueux					
	Soleil			Etuve		
	A	B	C	A	B	C
Alcaloïdes	±	±	+	±	+	+
Polyphénols	-	-	-	-	-	-
Flavonoïdes	-	-	-	-	-	-
Tanins	-	-	-	-	-	-
Anthraquinones	-	-	-	-	-	-
KOH/NaOH						

Stérols et terpènes	+	+	+	+	+	+
---------------------	---	---	---	---	---	---

Présence de composés : + ; Trace de composé : ± ; Absence de composé : – abondance de composés : ++

Tableau II : Répartition des composés organiques présents dans l'extrait hydro-éthanolique

Famille de composés	Extraits hydro-éthanoliques					
	Soleil			Etuve		
	A	B	C	A	B	C
Alcaloïdes	+	+	+	+	+	+
Polyphénols	+	+	+	±	±	±
Flavonoïdes	-	-	-	-	-	-
Tanins	-	-	-	-	-	-
Anthraquinones	-	-	-	-	-	-
KOH/NaOH	-	-	-	-	-	-
Stérols et terpènes	+	+	+	+	+	+

Présence de composés : + ; Trace de composé : ± ; Absence de composé : –

Tableau III : Répartition des composés organiques présents dans l'extrait hexanique

Famille de composés	Extraits hexaniques					
	Soleil			Etuve		
	A	B	C	A	B	C
Alcaloïdes	++	±	+	+	+	+
Polyphénols	±	±	±	±	±	±
Flavonoïdes	-	-	-	-	-	-
Tanins	-	-	-	-	-	-
Anthraquinones	-	-	-	-	-	-
KOH/NaOH	-	-	-	-	-	-
Stérols et terpènes	+	+	+	+	+	+

Présence de composés : + ; Trace de composé : ± ; Absence de composé : –

Tableau IV : Répartition des composés organiques présents dans l'extrait chlorométhylénique

Famille de composés	Extraits chlorométhyléniques					
	Soleil			Etuve		
	A	B	C	A	B	C

Alcaloïdes	++	+	+	±	+	+
Polyphénols	±	-	±	±	±	±
Flavonoïdes	-	-	-	-	-	-
Tanins	-	-	-	-	-	-
Anthraquinones	-	-	-	-	-	-
KOH/NaOH	-	-	-	-	-	-
Stérols et terpènes	+	+	+	+	+	+

Abondance de composés : ++ : présence de composés : + ; trace de composé : ± ; absence de composé : -

Les figures 3, 4, 5, 6 présentent les différents taux d'inhibition des extraits. Pour les extraits hexaniques des amandes séchées au soleil des trois zones géographiques nous avons les CI_{50} de 1,88 $\mu\text{g/mL}$ (A); 1,98 $\mu\text{g/mL}$ (B); 1,49 $\mu\text{g/mL}$ (C) et celles séchées à l'étuve sont de 2,20 $\mu\text{g/mL}$ (A); 2,20 $\mu\text{g/mL}$ (B). Pour les extraits chlorométhyléniques issus des amandes séchées à l'étuve nous avons les CI_{50} de 1,96 $\mu\text{g/mL}$; 1,71 $\mu\text{g/mL}$; 2,09 $\mu\text{g/mL}$) et de (1,33 $\mu\text{g/mL}$; 0,73 $\mu\text{g/mL}$; 1,49 $\mu\text{g/mL}$) pour les extraits chlorométhyléniques issus des amandes séchées au soleil. Ces résultats indiquent que les amandes séchées au soleil ont des activités antioxydantes meilleures comparativement à celles séchées à l'étuve. La vitamine C possède la meilleure activité antioxydante CI_{50} (0,70 $\mu\text{g/mL}$), suivie de l'extrait chlorométhylénique et l'extrait hexanique. L'extrait chlorométhylénique contient donc plus de composés antioxydants comparativement à l'hexane. La vitamine C est un réducteur puissant par conséquent, il possède un pouvoir antioxydant, qui est au centre de son activité biochimique. Nos résultats sont comparables à ceux de [21], qui ont évalué l'activité antioxydante des fruits secs dont la noix de cajou. Les études réalisées par ces auteurs ont montré que les amandes de la noix de cajou possèdent une activité antiradicalaire.

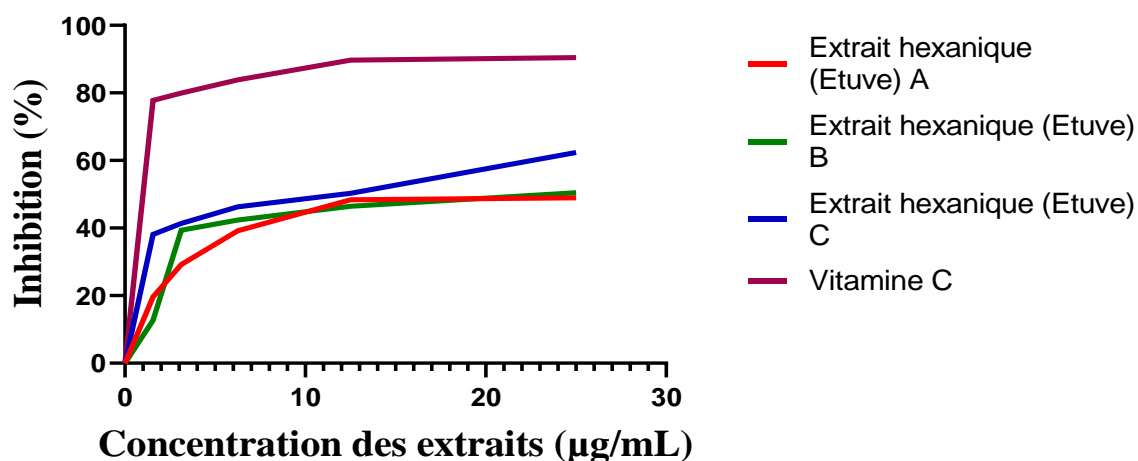


Figure 3 : pourcentage d'inhibition des extraits hexaniques séchés à l'étuve et de la vitamine C en fonction de leur concentration

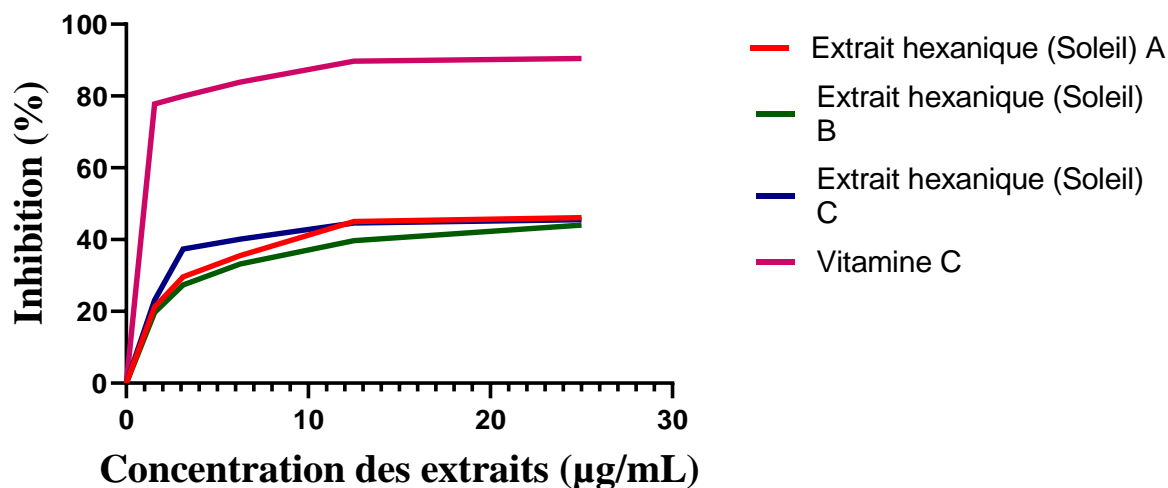


Figure 4: pourcentage d'inhibition des extraits hexaniques séchés au soleil et de la vitamine C en fonction de leur concentration

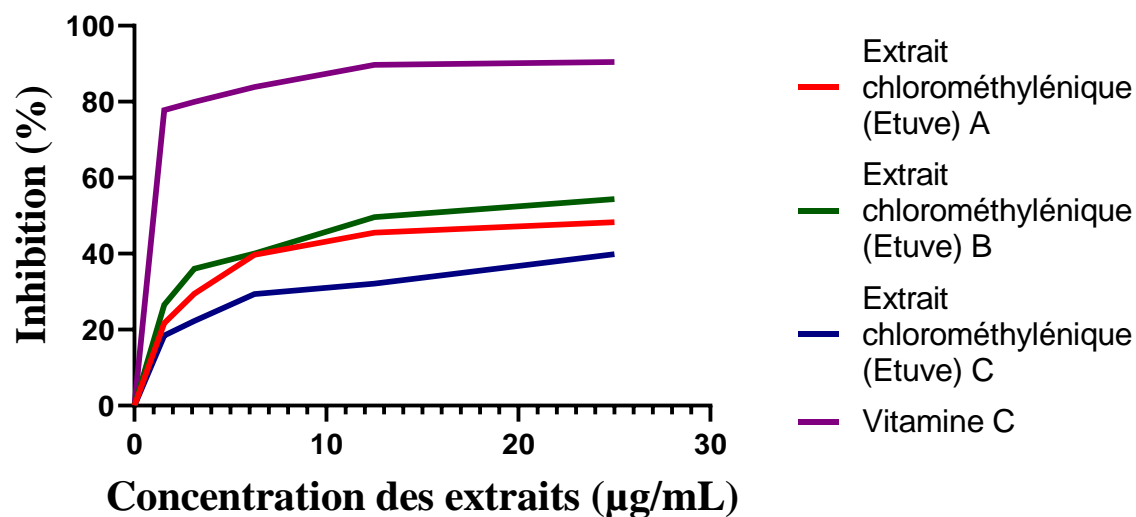


Figure 5: pourcentage d'inhibition des extraits chlorométhyléniques séchés à l'étuve et de la vitamine C en fonction de leur concentration

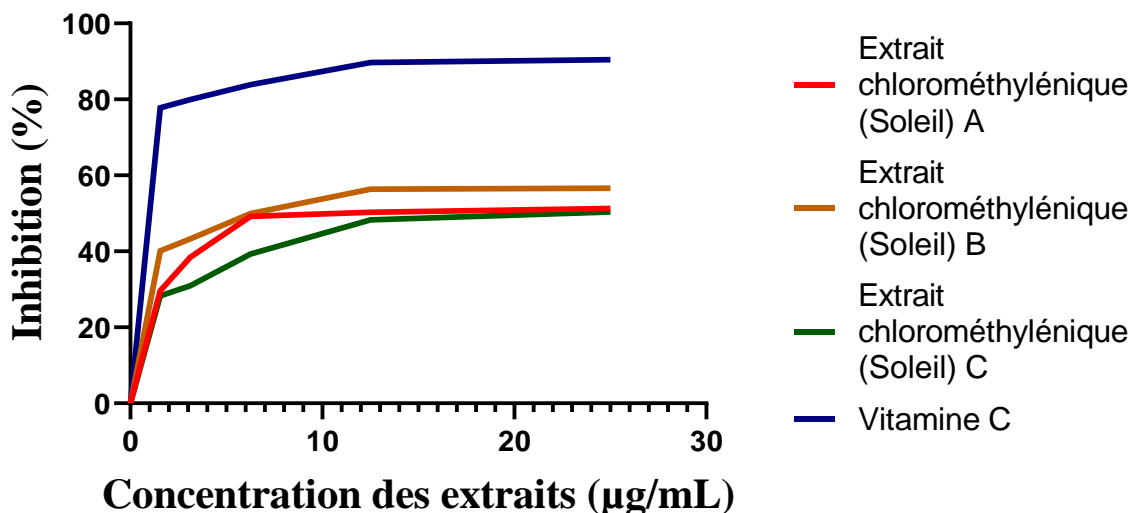


Figure 6: pourcentage d’inhibition des extraits chlorométhyléniques séchés au soleil et de la vitamine C en fonction de leur concentration

La figure 7 indique les pourcentages d’inhibitions de l’échantillon de la formulation de la vitamine C et de la quercétine. Ces résultats montrent les valeurs de 1µg/mL, 1,05µg/mL et 1,05µg/mL respectivement pour la vitamine C, la quercétine et de l’extrait X. alors que la crème amande et crème (amande +X) nous avons déterminé les CI₅₀ respectives de 2,07µg/mL et 1,49µg/ mL par extrapolation. La quantité des antioxydants présents dans l’extrait X est plus importante que celle présente dans la crème amande et crème (amande +X). En comparant nos produits aux témoins, la vitamine C possède la meilleure activité antiradicalaire, suivie de la quercétine, de l’extrait X, la crème (amande +X) et de la crème amande. Nous remarquons également que l’ajout de l’extrait X à la formulation améliore l’activité antioxydante de notre crème car l’extrait X possède une très bonne activité antioxydante. Pour obtenir une crème avec une bonne activité antioxydante nous envisageons augmenter la concentration d’extrait actif de *Erythrophleum suaveolens*. En effet, cette augmentation n’est pas gênante, nous avons utilisé une concentration de 8 mg/ mL. L’extrait étant toxique à plus de 50 mg/ mL, nous pouvons augmenter sans crainte la concentration [22].

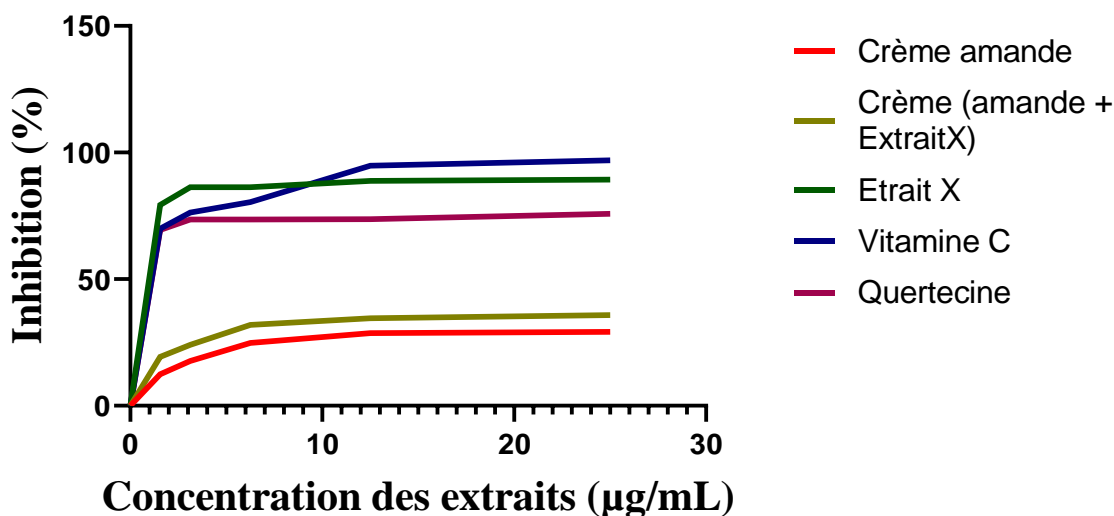


Figure 7: pourcentage d’inhibition de la crème, et des témoins (vitamine C et quercetine) en fonction de leur concentration

CONCLUSION

Ce travail de recherche est une contribution à la valorisation de l'amande de la noix de cajou (*Anacardium occidentale* L.) récoltées en Côte d'Ivoire. L'amande de cajou contient des composés organiques tels que: alcaloïdes, polyphénols, terpènes et stérols. Les extraits chlorométhylénique et hexanique contiennent des polyphénols. Les extraits séchés au soleil ont un pouvoir antioxydant plus élevé comparativement aux extraits séchés à l'étuve. La présence de quelques composés chimiques et d'une activité antiradicalaire pourrait expliquer son utilisation en alimentation, en cosmétique et en médecine traditionnelle. Ainsi, cette richesse pourrait diversifier l'utilisation de l'amande de cajou et par conséquent lutter contre certaines pathologies en raison de sa composition en alcaloïdes, stérols et terpènes, et en phénols et de la présence de composés antioxydants. L'activité antioxydante a été conservée également dans la formulation même si celle-ci reste faible comparativement à la molécule de référence, la vitamine C.

REFERENCES BLIOGRAPHIQUES

- [1] **Athamena S.** Etude quantitative et évaluation de l'activité biologique des flavonoïdes des graines de *Cuminum cyminum* et des feuilles de *Rosmarinus officinalis* Mémoire magister, Université El-Hadj Lakhdar-Batna, 2009.
- [2] **Jean, J.M. ; Annie F. ; Christian, J-A.** Les composés phénoliques des végétaux. Un exemple de métabolites secondaires d'importance économiques. Lausanne, press polytechniques et universitaires romandes, 192p, 2005.
- [3] **Pan, Y. ; Wang K. ; Huang, S. ; Wang, H. ; Mu, X. ; He, C. ; Ji, X. ; Zhang, J. ; Huang F.** Antioxydant activity of microwave assisted extract of longan (*Dimocarpus longan* Lour.) peel. *Food Chemistry*, 2008, 106: 1264- 1270
- [4] **Atmani, D. ; Chaher, N. ; Atmani, D. ; Berboucha, M. ; Debbache, N. ; Boudaoud, H.** Flavonoids in human health: from structure to biological activity. *Current Nutrition & Food Science*, 2009, 5(4): 225-237.
- [6] **Abdul, S.M. ; Mohaoakumaran, N. ; Balasubramanian, P.P.** Cashew Cultivation Science & Techniques, Directorate of Cashew & Cocoa Développement, Cochin, Kerala, India, 1999, 60 p.
- [7] **Adeigbe, O.O. ; Olasupo, F.O. ; Adewale, B.D. ; Muiyiwa, AA.** A review of cashew research and production in Nigeria in the last four decades. *Science Research Essays*, 2015, 10 (5): 196-209.
- [8] **Agboton, C. ; Onzo, A. ; Ouessou, F. ; Goergen, G. ; Vidal, S. ; Tamo, M.** Insect Fauna Associated with *Anacardium occidentale* (Sapindales: Anacardiaceae) in Benin, West Africa. *Journal of Insect Science*, 2014, 14: 229.
- [9] **Koné, M.** Analyse de la chaîne de valeur du secteur anacarde de la Côte d'Ivoire. Initiative du Cajou Africain, 2010, 76 p.
- [10] **De Logu, A.M. ; Haeusler G.** The world cashew economy, Inchiostroblu, Bologne, Italy, 1994, 235-248.
- [11] **Harborne, J. B.** Phytochemical Methods. Chapman and Hall.Ltd. London, 1998, 49-188
- [12] **Rosenman.** Observations on the clinical use of visammin (khellin). *J. Amer. Med. Ass.*, 1950, 143, 160-161.
- [13] **Ethel et Edith.** A quantitative Tannin test. *Biochem. J.*, 1922, 16,4, 516-517.
- [14] **Ciulei, I.** Pratical manuals on the industrial utilization of chemical and aromatic plants. Methodology for analysis of vegetable drugs Ed. Ministry of chemical industry, Bucharest, 1982, 67 p. 50
- [15] **Cole, G.M. ; Lim, G.P. ; Yang, F. ; Teter, B. ; Begum, A. ; Ma, Q. ; Harris-White, M.E. ; Frautschy A.** Prevention of Alzheimer's disease: Omega-3 fatty acid and anti-oxidant interventions. *Neurobiology of Aging*, 2005, 26, S

Contrôle de qualité d'une plante médicinale mise en culture au Mali : *Vernonia kotschyana* Sch. Bip. ex Walp.

DIARRA Mamadou Lamine, HAIDARA Mahamane, SANOGO Rokia

¹ Faculté de Pharmacie, Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako, BP.1805, Bamako, Mali.

² Département de Médecine Traditionnelle (DMT), Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP), BP.1746, Bamako, Mali.

Résumé

Au Mali, GASTROSEDAL[®] est un médicament traditionnel amélioré, à base de tubercules de *Vernonia kotschyana*, est largement utilisé dans le traitement des ulcères gastroduodénaux et les gastrites. Pour la forte demande, il est important de produire une matière première abondante et de qualité.

L'objectif a été de déterminer les éléments de contrôle la qualité des tubercules de *Vernonia kotschyana* cultivé.

La méthodologie a consisté à déterminer la qualité botanique (caractères organoleptiques et microscopiques), et la qualité physicochimique (teneurs en eau et des substances extractibles par l'eau) des tubercules de la plante.

Pour les résultats, la poudre de tubercule est de couleur blanchâtre, de saveur amère avec un arrière-goût sucré. Les poils tecteurs unicellulaires, des fibres, de xylème spiralé et pointu.

Les teneurs en eau ont été >10%, les teneurs en substances extractibles par l'eau ont été meilleures. Les constituants majoritaires ont été les oses, les holosides, les saponosides et des tanins.

En conclusion, ces données vont servir pour le contrôle de qualité de routine des échantillons de tubercules pour la mise au point du GASTROSEDAL[®] sûr, efficace et de qualité.

En perspective, nous proposons la culture de la plante pour obtenir de la matière première de qualité.

Mots clés : Mali, *Vernonia kotschyana* ; saponosides ; GASTROSEDAL.

Quality control of tubers of *vernonia kotschyana* sch. beep. ex walp cultivated in Mali.

Abstract

In Mali, GASTROSEDAL[®] is an improved traditional medicine, based on *Vernonia kotschyana* tubers, is widely used in the treatment of gastroduodenal ulcers and gastritis. For the high demand, it is important to produce an abundant and quality raw material.

The objective was to determine the quality control elements of tubers of *Vernonia kotschyana* cultivated.

The methodology consisted in determining the botanical quality (organoleptic and microscopic characters), and the physicochemical quality (water content and water-extractable substances) of the tubers of the plant.

For the results, the tuber powder is whitish, bitter flavor with a sweet aftertaste. Unicellular trichomes, fibers, spiral and punctuated xylem.

The water contents were > 10%, the contents of water soluble extractive were better. The major constituents were oses, holosides, saponosides and tannins.

In conclusion, these data will be used for routine quality control of tuber samples for the development of GASTROSEDAL[®] safe, effective and quality. In perspective, we propose the cultivation of the plant to obtain quality raw material.

Keywords: Mali, *Vernonia kotschyana*; saponosides; GASTROSEDAL[®].

1. Introduction

Les ulcères gastroduodénaux et les gastrites sont plus connus au Mali depuis longtemps. Depuis quelques années, nous assistons à une plus ou moins grande généralisation de ces maladies [1,2]. La médecine traditionnelle occupe une place de choix dans la couverture sanitaire du pays à l'instar des autres pays Africains où selon l'OMS, « 80% de la population africaine utilisent la Médecine Traditionnelle à base des plantes médicinales pour les soins de santé primaire ». Au Mali, ces pathologies sont traitées par les tubercules de *Vernonia kotschyana*. Le GASTROSEDAL[®] est un Médicament Traditionnel Amélioré (MTA) produit à base des tubercules de *Vernonia kotschyana*. Il est sur la liste nationale des médicaments essentiels du Mali [3].

Divers mécanismes d'action ont été suggérés pour le GASTROSEDAL® tels que le revêtement et la protection de la muqueuse gastrique, la diminution du taux d'extrusion des cellules épithéliales et le maintien de l'intégrité épithéliale [4]. En raison de la forte demande, il est important de produire une matière première abondante et de qualité. Cette étude, réalisée pour améliorer la santé de nos populations par la production de médicament traditionnel amélioré avait comme objectif de contrôler la qualité des tubercules de *Vernonia kotschyana* cultivé.

2. Matériel et méthodes

Le matériel végétal a été constitué par la poudre de tubercules de *Vernonia kotschyana* cultivé entre Mars 2015 et Février 2016. Les essais de contrôle botanique ont consisté à la détermination des caractères organoleptiques et microscopiques. Les essais physicochimiques ont consisté à la détermination de la teneur en eau, de la teneur en cendres totales et chlorhydriques, des substances extractibles par les solvants et la caractérisation des groupes chimiques.

Caractères organoleptiques de la poudre

Couleur

La couleur a été déterminée par appréciation d'une petite quantité déposée sur une feuille de papier de couleur blanche avec les différentes couleurs du dictionnaire de couleur.

Gout

Le gout a été déterminé après introduction d'une petite quantité dans la bouche.

Odeur

L'odeur a été déterminée en sentant une petite quantité avec le nez.

Microscopie

Dans un creuset en verre, une très petite quantité de poudre de tubercules de *Vernonia kotschyana* a été versée avec une goutte du réactif de Gadzet du Chatelier puis triturée. Une petite quantité de cette préparation, déposée entre une lame et une lamelle a été examinée au faible grossissement puis au fort grossissement. Les éléments microscopiques observés ont été photographiés.

Teneur en eau

Elle a été déterminée par la méthode pondérale en évaluant la perte de poids de la prise d'essai par dessiccation à l'étuve après 24 heures. Une quantité de 2 à 3 g de poudre de *Vernonia kotschyana* (masse prise d'essai) dans un verre de montre préalablement taré, a été placée dans l'étuve à 105 °C pendant 24 heures et la perte en poids a ensuite été déterminée. Cinq tests parallèles ont été effectués afin d'obtenir une moyenne. Le pourcentage en eau a été déterminé par les formules suivantes:

Masse prise d'essai = masse avant étuve - tare

Masse eau = masse avant étuve - masse après étuve

$$\% \text{ en eau} = \frac{\text{Masse eau}}{\text{Masse prise d'essai}} \times 100$$

La tare est la masse du verre de montre. La masse avant étuve est celle de la prise d'essai avant dessiccation et celle du verre de montre. La masse après étuve est celle de la prise d'essai après dessiccation et celle du verre de montre.

Cendres totales

Trois prises d'essai de la poudre de *Vernonia kotschyana* utilisée pour la teneur en eau ont été pesées dans 3 creusets en porcelaine préalablement taré (M). Après incinération au four à une température d'environ 600 °C pendant 6 heures, et refroidissement dans un dessiccateur, les masses (M') des creusets contenant les cendres ont été déterminées.

La masse des cendres totales (Mct) contenue dans le creuset et la masse de la prise d'essai (Mpe) sont déterminées par les formules suivantes :

$$Mct = M' - T$$

$$Mpe = M - T$$

La tare (T) est la masse du creuset en porcelaine. La masse de la prise d'essai (Mpe) est celle des prises d'essai utilisée pour la teneur en eau avant incinération moins celle des creusets. La masse des cendres totales (Mct) est celle des prises d'essai utilisée pour la teneur en eau après incinération moins celle des creusets.

Calculer le pourcentage des cendres totales (%Ct) par la formule suivante:

$$\%Ct = \frac{Mct}{Mpe} \times 100$$

Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique à 10% (cendres chlorhydriques)

Ces cendres sont obtenues en faisant bouillir les cendres totales dans de l'acide chlorhydrique à 10%. Les cendres totales préalablement obtenues ont été bouillies dans 20 ml d'acide chlorhydrique et filtrées sur du papier sans cendre. Ce papier a été transféré dans un creuset sec déjà taré de masse M. L'ensemble est pesé (M'), incinéré et repesé (M'').

La masse des cendres chlorhydriques (MCc) est donnée par la formule suivante :

$$MCc = M' - M''$$

Le pourcentage des cendres chlorhydriques (%Cc) est calculé par la formule suivante :

$$\%Cc = \frac{MCc}{\sum Mpe} \times 100$$

$\sum Mpe$ est la somme des masses de prise d'essai pour la détermination de la teneur en eau.

Substances extractibles

Le Dosage des substances extractibles par l'eau a été effectué par infusion et décoction et celui des substances extractibles par l'éther de pétrole, l'éthanol à 30% et 70% par macération de 24 heures.

Eau

Infusé

1 g de poudre a été extrait avec 20 ml d'eau par infusion. Après filtration, l'infusé a été évaporé à sec à 105 °C dans un creuset préalablement taré. Soit (M1) la masse du creuset vide et (M2) la masse du creuset avec l'extrait sec, le pourcentage de substances extractibles est calculé comme suit :

$$\% \text{ substances extractibles} = \frac{M_2 - M_1}{1} \times 100$$

Décocté

1 g de poudre a été extrait avec 20 ml d'eau par décoction. Après filtration, le décocté a été évaporé à sec dans un creuset préalablement taré. Soit (M1) la masse du creuset vide et (M2) la masse du creuset avec l'extrait sec, le pourcentage de substances extractibles est calculé comme suit :

$$\% \text{ substances extractibles} = \frac{M_2 - M_1}{1} \times 100$$

Ethanol à 30% et 70%

5 g de poudre a été extrait avec 100 ml d'éthanol à 30% et 70% par macération de 24 heures. Après filtration, le macéré a été évaporé à sec dans un creuset préalablement taré. Soit (P1) la masse du creuset vide et (P2) la masse du creuset avec l'extrait sec, le pourcentage de substances extractibles est calculé comme suit :

$$\% \text{ substances extractibles} = \frac{P_2 - P_1}{5} \times 100$$

Ether de pétrole

5 g de poudre a été extrait avec 100 ml d'éther de pétrole par macération de 24 heures. Après filtration, le macéré a été évaporé à sec dans un creuset préalablement taré. Soit (N1) la masse du creuset vide et (N2) la masse du creuset avec l'extrait sec, le pourcentage de substances extractibles par l'éther est calculé comme suit :

$$\% \text{ substances extractibles par l'éther} = \frac{N_2 - N_1}{5} \times 100$$

Caractérisation des groupes chimiques

Les alcaloïdes, les anthocyanes, les anthracénosides, les caroténoïdes, les composés réducteurs, les coumarines, les flavonoïdes, les hétérosides cardiotoniques, les hétérosides cyanogénétiques, les leucoanthocyanes, les mucilages, les oses et les holosides, les tanins, les stérols, les triterpènes et les saponosides avec leur indice de mousse ont été recherchés dans des poudres de tubercules de *Vernonia kotschyana* cultivés par les réactions colorées et de précipitation en tube et par chromatographie sur couche mince (CCM).

3. Résultats et discussion

3.1. Contrôle botanique

Les résultats du contrôle botanique ont montré des poudres des tubercules fine et de couleur blanc-cendre quand les tubercules sont épluchées et brun-noirâtre s'ils ne sont pas épluchés. Elles n'ont pas d'odeur caractéristique, leur saveur est amère avec un arrière goût sucré et mucilagineuse à la mastication. Diallo a obtenu un résultat similaire [5]. La microscopie a montré des cellules polygonales allongées, de xylème spiralé et ponctué, de fibres, de poil tecteur unicellulaire et de cristaux d'oxalate de calcium. A part le xylème ponctué, Ragusa et *al.* avaient signalé ces éléments microscopiques [6].

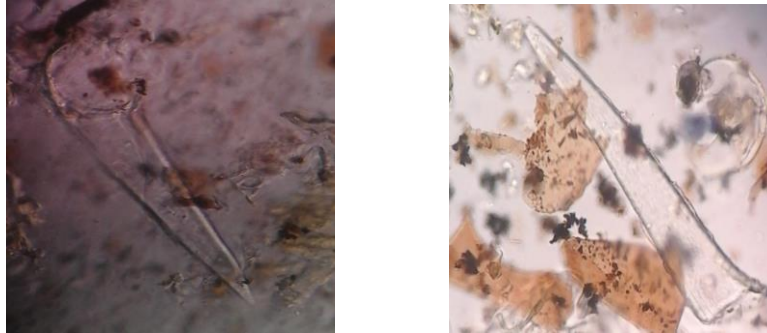


Figure 1 : Poil tecteur unicellulaire de poudre de *Vernonia kotschyana*.

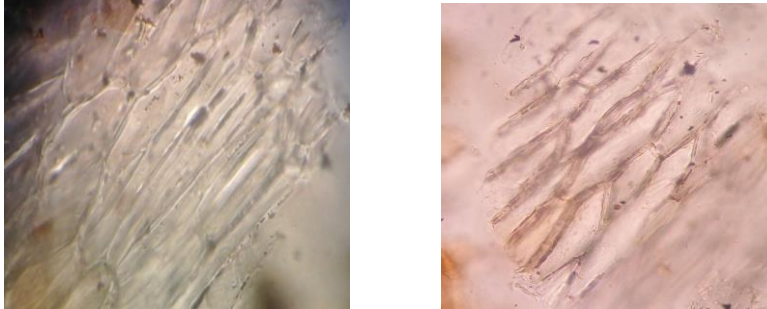


Figure 2 : Cellules polygonales allongées de poudre de *Vernonia kotschyana*.

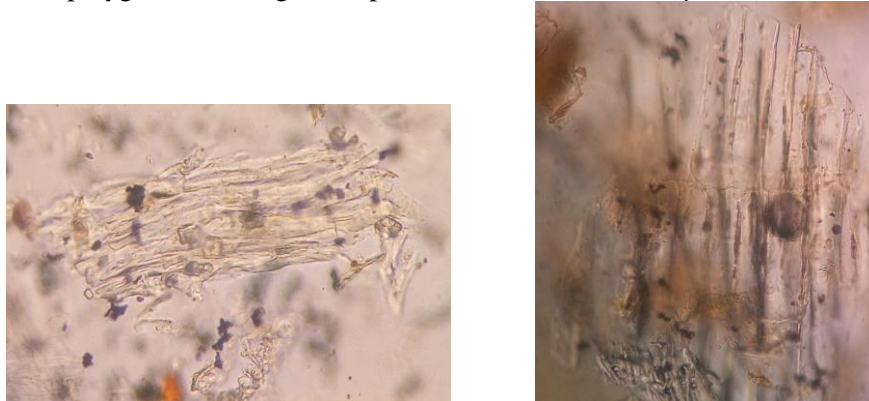


Figure 3 : Fibres de poudre de *Vernonia kotschyana*.



Figure 4 : Xylème spiralé et ponctué de poudre de *Vernonia kotschyana*.

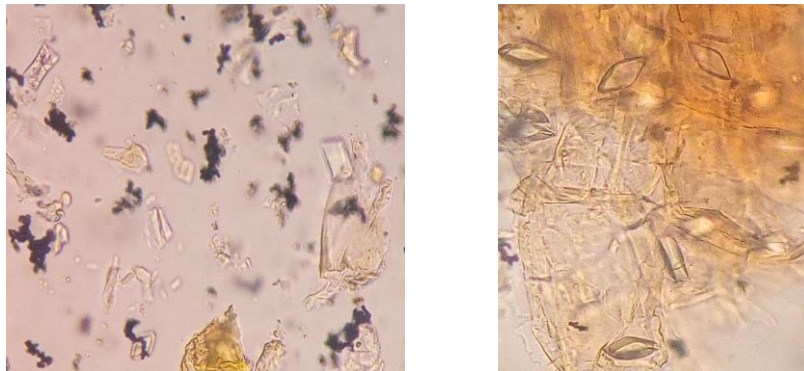


Figure 5 : Cristaux d'oxalate de calcium de poudre de *Vernonia kotschyana*.

3.2. Contrôle physicochimique

Le contrôle physicochimique a montré des teneurs en eau moyennes supérieures à 10%, en cendres totales moyennes de 6,51% et en cendres chlorhydriques moyennes de 0,27% (Tableau I). La teneur en eau supérieure à 10% explique que les échantillons n'étaient pas bien séchés d'où la nécessité de les découper en petits morceaux a fin de réaliser un bon séchage.

Les rendements moyens des extractions (Tableau II) avec l'eau sont 47,67% par infusion et 32,22% par décoction. Avec l'éthanol à 30% et 70% par macération, ils sont respectivement 11,22% et 28,50% (Tableau II). Le meilleur rendement est obtenu avec l'eau confirmant le mode de préparation indiqué par le formulaire thérapeutique national [3]. Avec l'éther de pétrole par macération il est de 0,21% (Tableau II). Les groupes chimiques révélés sont les caroténoïdes, les coumarines, les mucilages, les oses, les holosides, les saponosides et les tanins (Tableau III). Ces composés avaient été signalés par plusieurs auteurs [3,7,8,9,10].

Tableau I : Les Teneurs en eau, en cendres totales et en cendres chlorhydriques.

Teneurs	Valeurs moyennes
Eau	> 10%
Cendres totales	6,51%
Cendres insolubles dans Hcl à 10%	0,27%

Tableau II : Le rendement des extractions de poudre de tubercules de *Vernonia kotschyana*

Extractions	Rendement moyen
Eau par infusion	47,67%
Eau par décoction	32,22%
Ethanol à 30% par macération	11,22%
Ethanol à 70% par macération	28,50%
Ether de pétrole par macération	0,21%

Tableau III : Caractérisation des groupes chimiques de poudre de tubercules de *Vernonia kotschyana*

Groupes chimiques	Résultat
-------------------	----------

Caroténoïdes	+
Coumarines	+
Mucilages	+
Saponosides	+
Tanins	+
Oses et holosides	+
Stérols	-
Triterpènes	-
Flavonoïdes	-

4. Conclusion

Il ressort de cette étude, que ces données de contrôle de qualité peuvent servir au contrôle de routine des échantillons de tubercules de *Vernonia kotschyana* pour la mise au point du GASTROSEDAL[®] sûr, efficace et de qualité.

Références

- [1] Daffe S. Connaissances, attitudes et pratiques des populations face au paludisme dans l'aire de santé de Finkolo (Sikasso) Mali. Thèse Médecine, FMPOS, Université de Bamako, Bamako, 2005-67 p.
- [2] Keita A. Etude de trois plantes utilisées dans le traitement traditionnel de l'ulcère gastro-duodéal dans le district de Bamako : *Borassus oethiopus* Mart (Palmeae), *Sclerocarya birrea* (A. Rich). Hochst. (Anacardiaceae) et *ximenia americana* L. (Olacaceae). Thèse pharmacie, FMPOS, Université de Bamako, Bamako, 2005-195 p.
- [3] Ministère de la Santé du Mali. Formulaire thérapeutique national. Bamako. 2005.
- [4] Wangenstein H, Diallo D, Paulsen BS. Medicinal plants from Mali: Chemistry and biology. *Journal of Ethnopharmacology* (2015) 176, 429-437.
- [5] Diallo D., Koumaré A. et Koita N. Etude préliminaire d'une plante médicinale du Mali : *Vernonia kotschyana* Sch. Bip. Ministère de la Santé, *Cahier Spécial de l'INRSP* (1990), 52-56.
- [6] Ragusa S, Sanogo R, Germanó MP, Iauk L, De Pasquale R. Micromorphological investigations on *Vernonia kotschyana* Sch. Bip., Asteraceae *IOCD International Symposium*, Bamako, Mali, 6-8 March. 2002.
- [7] Nergard CS, Diallo D, Michaelsen TE, Malterud KE, Kiyohara H, Matsumoto T, Yamada H, Paulsen BS. Isolation, partial characterisation and immunomodulating activities of polysaccharides from *Vernonia kotschyana* Sch. Bip. ex Walp. *Journal of Ethnopharmacology* (2004) 91, 141-152.
- [8] Coulibaly A. Etude de la phytochimie et des activités biologiques des feuilles de *Vernonia kotschyana* Sch. Bip (Asteraceae). Thèse pharmacie, FMPOS, Université Bamako, Bamako, 2007-137 p.
- [9] Sanogo R, Germano MP, De Tommasi N, Pizza C, Aquino RP. Vernoniosides and Androstane Glycosides from *Vernonia kotschyana*. *ChemInform* (2010)
- [10] Inngjerdingen KT, Meskini S, Austarheim I, Ballo N, Inngjerdingen M, Michaelsen TE, Diallo D, Paulsen BS. Chemical and biological characterization of polysaccharides from wild and cultivated roots of *Vernonia kotschyana*. *Journal of Ethnopharmacology* (2012) 139, 350-358.

Evaluation de la qualité botanique, physicochimique, phytochimique et de l'activité anti-radicalaire de la pulpe de fruits de *Ziziphus mauritiana* Lam (Rhamnaceae), récoltés au Mali.

DIARRA Mamadou Lamine¹, HAIDARA Mahamane¹, MARIKO Madani¹, DAO Kayatou¹,
COULIBALY Djeneba¹, SANOGO Rokia¹⁻²

¹Faculté de Pharmacie, Université des Sciences des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB), BP 1805 Mali

²Département de Médecine Traditionnelle, Bamako, BP 1746 Mali

Résumé

Au Mali, *Ziziphus mauritiana* est une plante alimentaire et médicinale utilisée dans la prévention et la prise en charge de la malnutrition. Pour la valorisation des plantes alimentaires, l'objectif du présent travail était d'évaluer la qualité botanique, physicochimique, phytochimique et l'activité antiradicalaire des fruits de *Ziziphus mauritiana* largement consommés au Mali. Les fruits analysés ont été achetés dans les régions de Mopti, Nioro, Ségou et Sikasso. Les caractères macroscopiques, organoleptiques et granulométriques ont été examinés en se basant sur les organes de sens tandis que les éléments microscopiques étaient observés au microscope. Les éléments physicochimiques et phytochimiques ont été déterminés en utilisant des méthodes standards. L'activité anti-radicalaire a été évaluée en utilisant le test de réduction du radical DPPH par CCM. Les résultats ont montré que les échantillons récoltés dans différentes localités présentent globalement les mêmes caractères botaniques, physicochimiques, phytochimiques et une activité anti-radicalaire. Ces caractères peuvent servir d'éléments de contrôle des fruits de *Ziziphus mauritiana* en vue de son utilisation pour la prévention et la prise en charge de la malnutrition.

Mots clés : *Ziziphus mauritiana* Lam ; botanique ; physicochimique ; phytochimie, plante alimentaire.

Evaluation of the botanical, physicochemical, phytochemical quality and anti-radical activity of the fruit pulp of samples of *Ziziphus mauritiana* Lam (Rhamnaceae), harvested in Mali.

Abstract

In Mali, *Ziziphus mauritiana* is a food and medicinal plant used in the prevention and management of malnutrition. For the valorization of food plants, the objective of this work was to evaluate the botanical, physicochemical, phytochemical quality and the antiradical activity of the fruits of *Ziziphus mauritiana* widely consumed in Mali. The analyzed fruits were purchased in the regions of Mopti, Nioro, Ségou and Sikasso. The macroscopic, organoleptic and granulometric characters were examined based on the sense organs while the microscopic elements were observed under the microscope. Physicochemicals and phytochemicals were determined using standard methods. The antiradical activity was evaluated by using the test of reduction of radical DPPH by CCM. The results showed that the samples collected in different localities generally present the same botanical, physicochemical, phytochemical characters and an antiradical activity. These characters can serve as fruit control elements of *Ziziphus mauritiana* in view to its use for the prevention and management of malnutrition.

Key words: *Ziziphus mauritiana* Lam; botany; physicochemical; phytochemistry; food plant.

1. Introduction

En Afrique de l'ouest, les plantes sauvages ou de cueillettes sont utilisées comme aliment pendant les périodes de soudures, comme médicament et comme potentielle source de revenus pour les communautés locales. Dans la plupart des pays sahéliens, les populations rurales leur font recours pour les problèmes de carence en vitamines [1,2]. Parmi ces plantes, figurent *Ziziphus mauritiana* communément appelé le jujubier, originaire d'Asie tropicale [3].

Ziziphus mauritiana est rencontré à l'état spontané dans les zones soudaniennes et sahéliennes du Burkina Faso, du Cameroun, de la Gambie, de la Guinée, du Mali, du Niger et du Sénégal [4].

Le principal produit issu du jujubier est le fruit, dont la pulpe est consommée fraîche ou séchée et dont on extrait également le jus [5]. Les fruits de *Ziziphus mauritiana* sont considérés comme des suppléments alimentaires importants dans la région sahélienne pour augmenter la qualité de l'alimentation journalière des populations rurales [2].

Les propriétés nutritionnelles de la pulpe de *Ziziphus mauritiana* sont largement reconnues. Elle est riche en vitamines (C et A), en éléments minéraux (phosphore et le calcium) et très énergétiques, apportant jusqu'à environ 80 calories pour 100g [3]. Les fruits sont vendus frais ou transformés en beignets qui sont très appréciés par les consommateurs [6]. Toujours dans le souci de valoriser les plantes alimentaires du Mali, l'objectif de la présente étude était d'évaluer la qualité de la pulpe de fruits de *Ziziphus mauritiana*.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal était constitué d'échantillons de fruits de *Ziziphus mauritiana* achetés dans les régions de Mopti, Nioro, Ségou et Sikasso, en mars - avril 2019. La poudre de pulpe a été obtenue après séchage par pulvérisation et tamisage du fruit avec le mortier et tamis traditionnel et le pilon.

2.2. Méthodes

Les méthodes utilisées ont consisté à déterminer la qualité botanique, physicochimique, phytochimique et l'activité anti-radicalaire des fruits de *Ziziphus mauritiana*. Les éléments de qualité botanique portaient sur les caractères macroscopiques du fruit, des caractères organoleptiques, microscopiques et granulométriques de la poudre de pulpe fruit. Les éléments physicochimiques et phytochimiques déterminés concernaient les teneurs, les substances extractibles et les constituants chimiques.

2.2.1 Détermination de la qualité botanique

▪ Examen macroscopique du fruit :

Il a porté sur la description du fruit. Les éléments décrits concernaient le type, la forme, le diamètre et la couleur du fruit.

▪ Analyse organoleptique de la poudre de Pulpe :

Elle a porté sur la description de la couleur, la saveur et l'odeur de la pulpe de fruits.

La couleur a été déterminée en comparant une petite quantité de poudre de pulpe aux couleurs du dictionnaire de couleurs (www.code-couleur.com/dictionnaire/couleur-r.html).

La saveur a été déterminée en déposant une petite quantité de pulpe sur la langue et garder pendant quelques secondes puis le goût a été apprécié (amer, salé, sucré ou acide).

L'odeur a été déterminée en approchant aux narines une petite quantité de la pulpe prélevée entre le pouce et l'index pour savoir si elle caractéristique ou non.

▪ Granulométrie de la poudre de pulpe :

La granulométrie de la poudre de pulpe a été déterminée en observant la taille (fine, moyenne, semi-grossière ou grossière) de la pulpe après pulvérisation.

▪ Caractères microscopiques de la poudre de pulpe :

Nous avons prélevé une petite quantité de la poudre à l'aide d'une spatule et mise dans un verre de montre, puis nous l'avons trituré avec le réactif de Gadzet du Chatelier. Nous avons monté sur une lame, une petite quantité de ce mélange, recouverte par une lamelle. Après nous avons appuyé légèrement pour homogénéiser la préparation, puis nous avons absorbé les bavures à l'aide d'un papier buvard. Nous avons ensuite examiné au microscope avec l'objectif 40 ; puis photographié les éléments microscopiques en utilisant le camera d'un téléphone mobile de marque SAMSUNG J6.

2.2.2 Détermination de la qualité physicochimique et phytochimique

▪ Dosage des paramètres physicochimiques

L'analyse a porté sur les teneurs en eau, cendres totales, cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique, substances extractibles par l'eau et par l'éthanol.

➤ La teneur en eau

Est déterminée par la méthode pondérale en évaluant la perte de poids de la prise d'essai par dessiccation à l'étuve après 24 heures. Une quantité de 2 à 3 g de poudre de pulpe dans un verre de montre préalablement taré, a été placée dans l'étuve à 105 ± 2 °C pendant 24 heures et la perte en poids a ensuite été déterminée. Le pourcentage en eau a été déterminé par la formule suivante :

$$\% \text{ en eau} = \frac{\text{Masse eau}}{\text{Masse prise d'essai}} \times 100$$

➤ Les cendres totales

Trois prises d'essai de la poudre de pulpe utilisée pour la teneur en eau ont été pesées dans 2 creusets en porcelaine préalablement tarés. Après incinération au four à une température d'environ 600 °C pendant 6 heures, et refroidis dans un dessiccateur, les masses des creusets contenant les cendres ont été déterminées. Le pourcentage des cendres totales est calculé par la formule suivante :

$$\% \text{ Cendres totales} = \frac{\text{Masse cendres}}{\text{Prise d'essai}} \times 100$$

➤ Les cendres chlorhydriques

Ces cendres sont obtenues à partir de l'action de l'acide chlorhydrique dilué à 10 % sur les cendres totales et par calcination dans le four réglé à 600 °C pour une calcination pendant 6 h. La teneur en cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique a été calculée selon la formule suivante :

$$\text{Teneur cendres insolubles dans HCl 10\% (\%)} = \frac{\text{Masse cendres HCl}}{\text{Somme des prises d'essais}} \times 100$$

➤ Les substances extractibles par l'eau et l'éthanol à 70 %

Elles sont déterminées à partir de 1 g de la poudre de pulpe de fruit avec 20 ml du solvant. Après filtration, le filtrat a été évaporé à sec dans un creuset préalablement taré. Le pourcentage de substances extractibles a été calculé par la formule :

$$\% \text{ Substances extractible} = (\text{Masse extrait} - \text{Masse du creuset}) \times 100$$

Les solvants utilisés étaient l'eau après une décoction (5 %) de 15 minutes et l'éthanol à 70 % après une macération de 24 heures.

▪ **Caractérisation des constituants chimiques**

Les constituants chimiques des extraits ont été caractérisés par les réactions de colorations et de précipitation en tube et par chromatographie sur couche mince (CCM).

➤ **Réactions colorées et de précipitation en tube**

Les réactifs de caractérisation classiques ont été utilisés pour mettre en évidence les groupes chimiques suivants : alcaloïdes (réactif de Dragendorff), anthracénosides (réaction de Bornträger), polyphénols et tannins (chlorure ferrique), flavonoïdes (réaction de la Cyanidine), stérols et terpènes (réaction de Lieberman), saponosides (présence de mousse persistante, indice de mousse) etc. Les résultats ont été exprimés en croix selon l'intensité.

➤ **Chromatographie sur couche mince**

Des extraits aqueux (une décoction et une infusion) et un extrait hydroalcoolique ont été utilisés pour la CCM. Les plaques portant les dépôts d'échantillons ont été migrés dans de l'Acétate d'éthyle – Méthyléthylcétone – Acide formique – Eau (50-30-10-10) et du Butanol-acide acétique-eau (40-10-50) et après leurs migrations ont été respectivement révélés avec le FeCl₃ et le Godin.

2.2.3 Détermination de l'activité anti-radicalaire

L'activité anti-radicalaire des extraits aqueux (décoction et infusion) et éthanolique a été évaluée en utilisant le test de réduction du radical DPPH par CCM. Le chromatogramme migré dans le système de solvant (Acétate d'éthyle-Méthyl éthyle cétone-Acide formique-eau : 50 :30 :10 :10) a été révélé par une solution méthanolique de DPPH (2 mg/ml). Les zones d'activités ont été déterminées par l'apparition d'une coloration jaune sur fond violet.

3 Résultats

3.1 Données botaniques

3.1.1 Caractères macroscopiques du fruit :

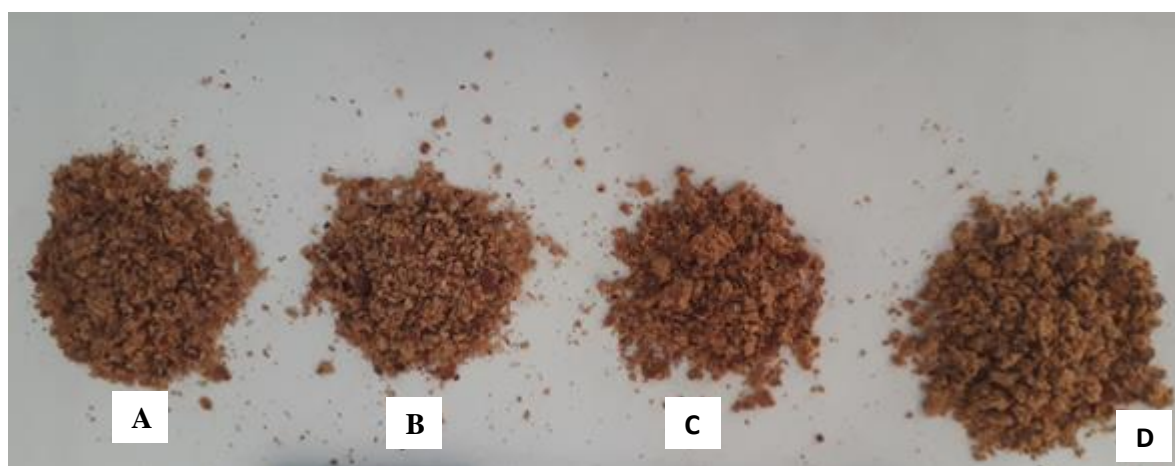
Le fruit illustré sur la figure 1 est une drupe globuleuse ou ellipsoïdale avec un diamètre moyen de 5,8 mm et de couleur rouge andrinople (#A91101 de code dans le dictionnaire de couleurs).



Fig. 1. Fruits de *Ziziphus mauritiana* Lam [7].

3.1.2 Caractères organoleptiques et la granulométrie de la poudre de pulpe

Pour tous les quatre échantillons, il n'y a pas eu de variation de couleur, de saveur, d'odeur et de granulométrie. La couleur est blanc crème (#FDF1B8 de code) à rouge andrinople (#A91101 de code), la saveur est sucrée avec un arrière-goût acide, l'odeur est caractéristique et pour la granulométrie, les poudres étaient de taille moyenne (voir figure 2).



A : Mopti ; B : Nioro ; C : Ségou ; D : Sikasso

Fig. 2. Poudre de pulpe de fruits de *Ziziphus mauritiana* Lam [7]

3.1.3 Eléments microscopiques de la pulpe

Les éléments microscopiques identifiés comprennent les parenchymes, le xylème spiralé, le xylème spiralé à ponctué, les cristaux d'oxalate de calcium et les fibres dans les quatre échantillons. Les fragments d'épiderme ont été observés seulement dans les échantillons de Nioro et Sikasso (voir les images dans la figure 3).

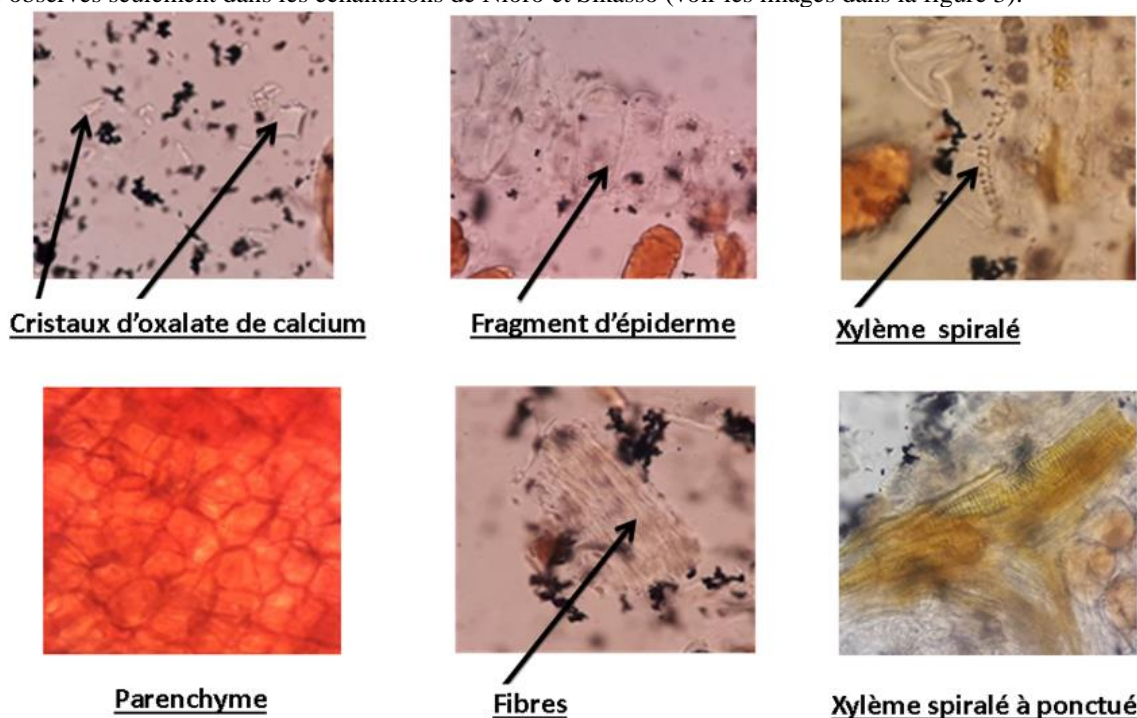


Fig. 3. Eléments microscopiques identifiés dans la pulpe de fruits de *Ziziphus mauritiana* [7].

3.2 Données physicochimiques

Les teneurs des paramètres déterminées dans les quatre échantillons sont indiquées dans le tableau 1.

Tableau 1. Pourcentage des teneurs en eau, cendres et substances extractibles par l'eau et par l'éthanol à 70%
Echantillons

	Teneurs (%)				
Echantillons	T _{eau}	T _{CT}	T _{ClHCl}	T _{SEE}	T _{SEEt}
Mopti	10,25	5,28	0,13	33	27
Nioro	10,83	5,38	0,18	32	23
Ségou	12,33	4,87	0,18	34	22

Sikasso 12,66 5,11 0,18 39 26

T_{eau} = Teneur en eau ; T_{CT} = Teneur en cendres totales ; T_{ClHCl} = Teneur en cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique ; T_{SEE} = Teneur en substances extractibles par l'eau ; T_{SEEt} = Teneur en substances extractibles par l'éthanol.

La teneur en eau a été supérieure à 10% dans tous les quatre échantillons. La teneur en cendres chlorhydriques était inférieure à 0,5% pour tous les échantillons. Les meilleurs rendements pour les extractions ont été obtenus avec l'eau.

3.3 Données phytochimiques

Réactions en tubes

Les réactions en tube des pulpes de fruits ont montré la présence de tanins, de flavonoïdes, de leucoanthocyanes, d'oses et d'holosides, de polyuronides et de saponosides (tableau 2).

Tableau 2. Constituants chimiques identifiés par les réactions en tubes

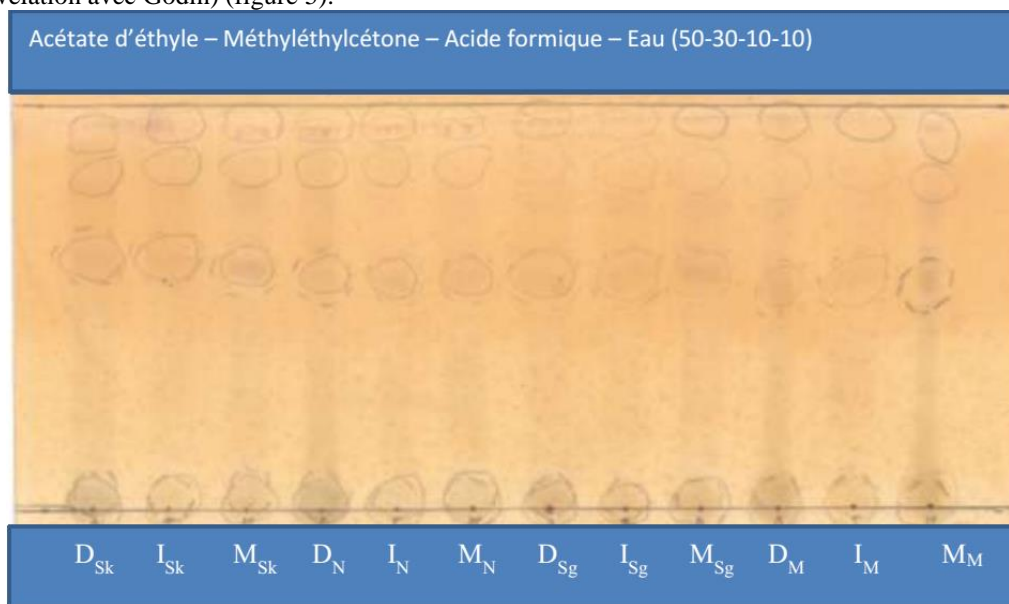
Constituants chimiques	Mopti	Nioro	Ségou	Sikasso
Tanins avec FeCl ₃	+	+	+	+
Flavonoïdes	+	+	+	+
Leuco anthocyanes	++	++	++	++
Oses et Holosides	+++	+++	+++	+++
Polyuronides (mucilages)	+++	+++	+++	+++
Saponosides	+++	+++	+++	+++
Indice de mousse	142,85	142,85	142,85	111,11

+++ : Fortement positive ; ++ : Positive ; + : Réaction louche.

Chromatographie sur couche mince (CCM)

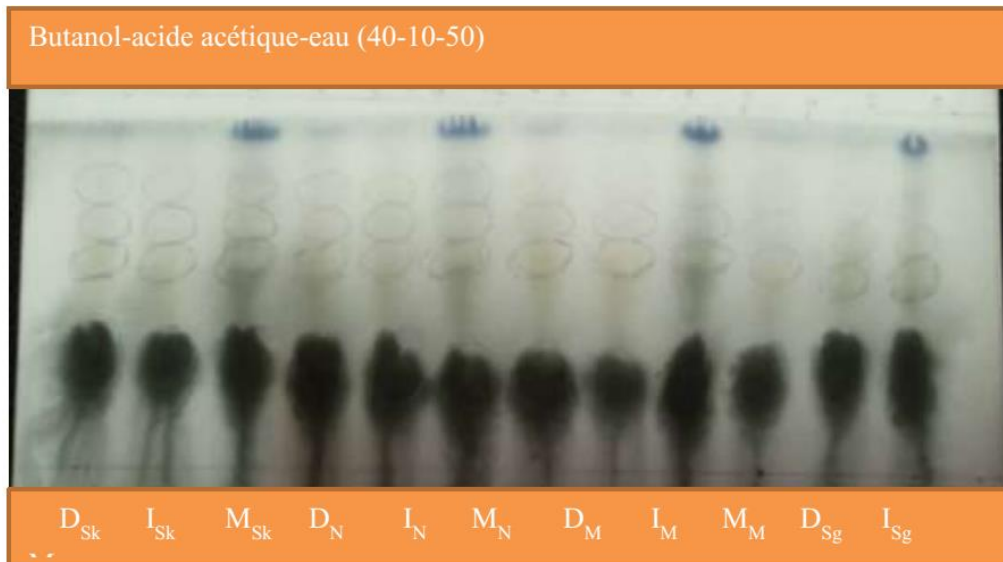
Les données chromatographiques sont illustrées par les figures 4 et 5 représentant respectivement les chromatogrammes au FeCl₃ et au Godin.

La CCM a montré la présence de tanins (colorations noires observées après révélation avec FeCl₃) (figure 4), des flavonoïdes (colorations jaunes observées après révélation avec Godin) et des sucres (colorations noires observées après révélation avec Godin) (figure 5).



D_{Sk} : décoction Sikasso ; I_{Sk} : infusion Sikasso ; M_{Sk} : macération Sikasso. D_N : décoction Nioro ; I_N : infusion Nioro ; M_N : Macération Nioro. D_{Sg} : décoction Ségou ; I_{Sg} : infusion Ségou ; M_{Sg} : macération Ségou. D_M : décoction Mopti ; I_M : infusion Mopti ; M_M : macération Mopti.

Fig. 4. Chromatogramme des extraits aqueux et éthanoliques migrés dans le système acétate d'éthyle-méthyléthylcétone-Acide Formique-Eau (50-30-10-10) puis révélés avec FeCl₃.

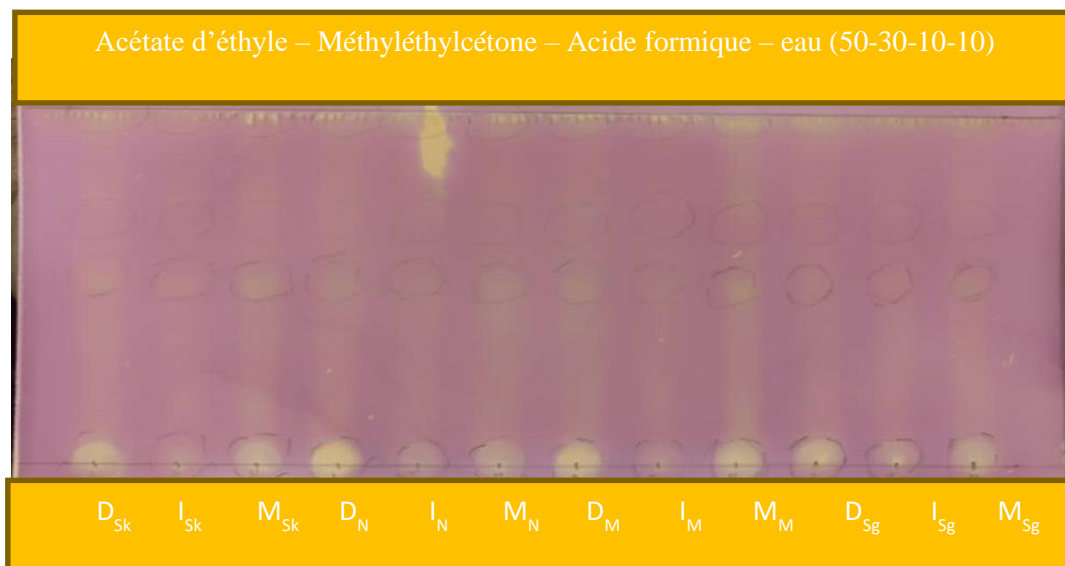


D_{Sk} : décoction Sikasso ; *I_{Sk}* : infusion Sikasso ; *M_{Sk}* : macération Sikasso. *D_N* : décoction Niroro ; *I_N* : infusion Nioro ; *M_N* : Macération Nioro. *D_{Sg}* : décoction Ségou ; *I_{Sg}* : infusion Ségou ; *M_{Sg}* : macération Ségou. *D_M* : décoction Mopti ; *I_M* : infusion Mopti ; *M_M* : macération Mopti.

Fig. 5. Chromatogramme des extraits aqueux et éthanoliques migrés dans le système Butanol-acide acétique-eau (40-10-50) puis révélés avec Godin.

3.4 Activité anti-radicalaire

Les extraits aqueux et éthanoliques des quatre échantillons se sont montrés riches en constituants anti-radicalaires anti-DPPH (apparition de taches jaunâtres sur fond violet) par CCM (voir figure ci-dessous).



D_{Sk} : décoction Sikasso ; *I_{Sk}* : infusion Sikasso ; *M_{Sk}* : macération Sikasso ; *D_N* : décoction Niroro ; *I_N* : infusion Nioro ; *M_N* : Macération Nioro ; *D_M* : décoction Mopti ; *I_M* : infusion Mopti ; *M_M* : macération Mopti ; *D_{Sg}* : décoction Ségou ; *I_{Sg}* : infusion Ségou ; *M_{Sg}* : macération Ségou.

Fig. 6. Chromatogramme des extraits aqueux et éthanoliques migrés dans le système Acétate d'éthyle-Méthyléthylcétone-Acide formique-eau puis révélés par une solution de radical DPPH.

Les extraits sont aussi bien riches en constituants antiradicalaires et en polyphénols (flavonoïdes et tanins), des leuco-anthocyanes et des saponosides.

Discussion

Macroscopiquement, d'autres auteurs [8,9] avaient obtenu une description similaire du fruit de *Ziziphus mauritiana*. La poudre de pulpe de fruit est de couleur blanchâtre à rougeâtre, de saveur sucrée avec un arrière-goût acide et d'odeur est caractéristique. Une couleur blanchâtre à blanc-jaunâtre et rougeâtre a été obtenue avec les poudres de pulpe par Delfanian [10]. Muchuweti et al. ont signalé la présence de sucre et d'acide, responsables du goût sucré avec un arrière-goût acide [11].

Pour les données physicochimiques, les teneurs en eau étaient supérieures à 10%. Donc la pulpe de fruits du jujubier ne peut donc pas être conservée pendant longtemps en raison de développement de réaction d'oxydation, de fermentation et de formation de moisissures. Ces résultats sont en accord avec celui de Niéyidouba qui ont aussi trouvé une teneur en eau de 13,22% [13]. Les teneurs des cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique (inférieure à 0,5%), signifient une très faible proportion en éléments siliceux et montre que les fruits ont été bien séchés à l'abri d'impuretés. Les teneurs en cendres totales avec une moyenne de 5,16% sont proches de celle obtenue par Niéyidouba en 2018. Etant donné que nos échantillons sont très peu riches en éléments siliceux, toutes ces cendres totales pourraient représenter la teneur en substances physiologiques (tissus végétaux) et en minéraux. D'autres études avaient signalé la richesse de la pulpe de jujubes en minéraux [4,3,12]. Les substances extractibles avec l'eau étaient plus importantes qu'avec l'éthanol. Cela pourrait être un élément justificatif de l'utilisation traditionnelle de la pulpe de cette plante.

Pour les données phytochimiques, les réactions en tube et la CCM ont montré dans les pulpes de fruits la présence de tanins, de flavonoïdes, de leucoanthocyanes, d'oses et d'holosides, de polyuronides et de saponosides. Ces résultats sont légèrement différents de ceux reportés dans la littérature où on signale aussi la présence de stérols et triterpènes [14,15].

Les extraits aqueux et éthanoliques ont montré la présence de constituants antiradicaux anti-DPPH. D'autres études ont prouvé l'activité antioxydante des fruits de *Ziziphus mauritiana* par la réduction du radical DPPH [15] et par la réduction de l'ion ferreux. Afzal et al. ont trouvé une activité antioxydante avec les racines de *Ziziphus mauritiana* [16]. Le stress oxydant intervient dans la malnutrition par une diminution des facteurs de protection antioxydante [17] et une détérioration de la flore digestive [18]. Les extraits de pulpes de fruits de *Ziziphus mauritiana*, riches en constituants antiradicaux, pourraient contribuer à la prévention et à la prise en charge de la malnutrition.

Conclusion

Les échantillons de pulpes de fruits de *Ziziphus mauritiana* récoltés dans différentes localités possèdent des caractéristiques botaniques, physicochimiques et phytochimiques assez proches similaires. Ces résultats couplés à ceux de la littérature scientifique justifient l'usage traditionnel de cette plante. Les extraits aqueux de pulpes de fruits de *Ziziphus mauritiana* riches en constituants poly phénoliques et antiradicaux peuvent contribuer à la prévention et à la prise en charge de la malnutrition.

Conflit d'intérêts

Il n'y a pas eu de conflit d'intérêts.

Contributions des Auteurs

MLD a conçu, conduit l'étude et participé à la rédaction de l'article. MH, MM, KD et DC ont participé à la rédaction de l'article. RS a relu et corrigé l'article.

Remerciements

Les auteurs remercient le personnel du Département Médecine Traditionnelle de l'Institut National de Santé Publique.

Références

- [1] Kouyaté, A. M., Van Damme, P., De Meulenaer, B., & Diawara, H. (2009). Contribution des produits de cueillette dans l'alimentation humaine. Cas de *Detarium microcarpum*. Africa Focus, 22(1), 77-88.
- [2] Diarra, N., Togola, A., Denou, A., Willcox, M., Daou, C., & Diallo, D. (2016). Etude ethnobotanique des plantes alimentaires utilisées en période de soudure dans les régions Sud du Mali. International Journal of Biological and Chemical Sciences, 10(1), 184-197.
- [3] Lucien, J.M. (2012). Etude de la transformation du fruit du jujubier (# *Ziziphus mauritiana* Lam.#) en galettes: Impact de la cuisson sur la qualité nutritionnelle (Doctoral dissertation, Montpellier SupAgro).
- [4] Koné B., Kalinganire A. et Doumbia M. (2009). La culture du jujubier : un manuel pour l'horticulteur sahélien. ICRAF Technical Manual no. 10. Nairobi : World Agroforestry Centre.
- [5] Kalinganire A. et Koné B. (2011). *Ziziphus mauritiana*, jujubier. Conservation et utilisation durable des ressources génétiques des espèces ligneuses alimentaires prioritaires de l'Afrique subsaharienne. Bioversity International (Rome, Italie).
- [6] Coulibaly K., Guindo S.S., Soumaré A., Maïga A.S., Yossi H., et Sinaba F. (2012). Techniques de production du jujubier amélioré dans les jardins. Production végétale. Fiche technique, édition 2013.
- [7] Dao K. (2020). Etude phyto-chimique et de l'activité anti-radicalaire de la pulpe de fruits de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Thèse de Pharmacie, Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako).
- [8] Mugnier J. (2008). Nouvelle flore du Sénégal et des régions voisines.

- [9] Arbonnier M. (2009). Arbres, Arbustes et Lianes des Zones Sèches d’Afrique de l’Ouest (3ième éd.). Quae : Paris, p. 573.
- [10] Delfanian, M., Esmailzadeh Kenari, R., & Sahari, M. A. (2016). Utilization of Jujube fruit (*Ziziphus mauritiana* Lam.) extracts as natural antioxidants in stability of frying oil. *International Journal of Food Properties*, 19(4), 789-801.
- [11] Muchuweti M., Zenda, G., Ndhala, A. R., & Kasiyamhuru, A. (2005). Sugars, organic acid and phenolic compounds of *Ziziphus mauritiana* fruit. *European Food Research and Technology*, 221(3), 570-574.
- [12] Goyal, M., Nagori, B. P., & Sasmal, D. (2012). Review on ethnomedicinal uses, pharmacological activity and phytochemical constituents of *Ziziphus mauritiana* (Z. jujuba Lam., non Mill). *Spatula DD*, 2(2), 107-16.
- [13] Niéyidouba L., Ouédraogo S.J., Sanogo D., Kouyaté A.M., Tougiani A., Vognan G., Tapsoba D., Parkouda C., et Bayala J. (2018). Catalogue régional des arbres et arbustes alimentaires des terroirs sahéliens et soudaniens d’Afrique de l’Ouest : vers une meilleure valorisation de leurs potentiels nutritionnels. 75-76p.
- [14] Rathore, S. K., Bhatt, S., Dhyani, S., & Jain, A. (2012). Preliminary phytochemical screening of medicinal plant *Ziziphus mauritiana* Lam. fruits. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, 4(3), 160-162.
- [15] Okala, A., Ladan, M. J., Wasagu, R. S. U., & Shehu, K. (2014). Phytochemical studies and *in vitro* antioxidant properties of *Ziziphus mauritiana* fruit extract. *Intl J Pharma Phytochem Res*, 6(4), 885-888.
- [16] Afzal, S., Batool, M., Ch, B. A., Ahmad, A., Uzair, M., & Afzal, K. (2017). Immunomodulatory, cytotoxicity, and antioxidant activities of roots of *Ziziphus mauritiana*. *Pharmacognosy magazine*, 13(Suppl 2), S262.
- [17] Houssaini, F. Z. S., Arnaud, J., Richard, M. J., Renversez, J. C., & Favier, A. (1997). Evaluation du stress oxydant et des défenses antioxydantes chez l’enfant malnutri marocain. *Annals of nutrition and metabolism*, 41(3), 149-159.
- [18] Million M., Alou M.T., Khelaifia S., Bachar D., Lagier J.C., Dione N., ... & Raoult D. (2016). Increased Gut Redox and Depletion of Anaerobic and Methanogenic Prokaryotes in Severe Acute Malnutrition. *Scientific Reports*, 6(1), 26051.
- www.code-couleur.com/dictionnaire/couleur-r.html (consulté le 10/06/2019).

Activités antibactériennes d'huiles essentielles extraites de feuilles de *Hyptis suaveolens* et de *Lippia multiflora* contre des bactéries multi-résistantes

GOLY Kouassi Roselin Cyrille ^{1*}, YOBOUE Behibolo Antoinette ², SORO Yaya ³

¹ Laboratoire des Sciences Biologiques, Université Alassane OUTTARA de Bouaké, 01 BPV 18 Bouaké 01 (Côte d'Ivoire)

² Laboratoire des Sciences Biologiques, Université Alassane OUTTARA de Bouaké, 01 BPV 18 Bouaké 01 (Côte d'Ivoire)

³ Laboratoire des Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles, Institut National Polytechnique Félix HOUPHOUËT-BOIGNY, BP 1093 Yamoussoukro (Côte d'Ivoire).

Résumé : L'incidence des maladies infectieuses a pris de l'ampleur du fait de l'émergence des bactéries résistantes à des nombreux antibiotiques conventionnels [1].

Cette étude vise à lutter contre la multirésistance bactérienne par la mise en évidence de propriétés antimicrobiennes d'*Hyptis suaveolens* et de *Lippia multiflora*, utilisées en médecine traditionnelle [2].

L'huile essentielle et des extraits éthanoliques (70%) de feuilles de ces plantes ont été testés sur deux souches bactériennes multirésistantes par diffusion et double dilution en milieux gélosé et liquide [3].

L'huile essentielle de *Lippia multiflora* et l'extrait Eeth.2 de *Hyptis suaveolens* ont été plus efficaces. Les diamètres d'inhibition varient de 20 à 28 mm pour l'huile et de 20 à 30 mm pour Eeth.2. Pour ces souches résistantes, la CMI de l'huile est de 0,9 mg/mL et celle de Eeth.2 0,78 mg/mL. Le mélange de l'huile essentielle avec l'ofloxacine montre une synergie d'action. La capacité de cet antibiotique à inhiber le développement bactérien passe de 33 à 50 mm et 40 à 60 mm, respectivement contre *S. aureus* Meti-R et *P. aeruginosa* ceft/Imp-R.

L'huile essentielle de *Lippia multiflora* a une activité bactéricide contre ces souches multi-résistantes. Il serait intéressant de révéler les molécules responsables de cette activité.

Mots clés : *Hyptis suaveolens* ; *Lippia multiflora* ; activité antibactérienne ; activité synergique

Antibacterial activity of essential oils and extracts from the leaves of *Hyptis suaveolens* and *Lippia multiflora* on multi-resistant bacteria

Abstract: The incidence of infectious diseases has increased due to the emergence of bacteria resistant to many conventional antibiotics [1].

This study aims to fight against bacterial multiresistance by highlighting the antimicrobial properties of *Hyptis suaveolens* and *Lippia multiflora*, used in traditional medicine [2].

The essential oil and ethanolic extracts (70%) of the leaves of these plants were tested on two multiresistant bacterial strains by diffusion and double dilution in agar and liquid media [3].

Lippia multiflora essential oil and ethanolic extract Eeth.2 were more effective. The inhibition diameters vary from 20 to 28 mm for oil and from 20 to 30 mm for Eeth.2. For these resistant bacteria the MIC is 0.9 mg/mL for oil and 0.78 mg/mL for Eeth.2.

. The mixture of essential oil with ofloxacin shows a synergy of action. The ability of this antibiotic to inhibit bacterial development increases from 33 to 50 mm and 40 to 60 mm, respectively against *S. aureus* Meti-R and *P. aeruginosa* ceft/Imp-R.

Lippia multiflora essential oil has bactericidal activity against these multi-resistant strains. It would be interesting to reveal the molecules responsible of this activity.

Keywords: *Hyptis suaveolens*; *Lippia multiflora*; antibacterial activity; synergic activity

1. Introduction

Au cours des vingt dernières années, l'incidence des maladies infectieuses a pris de l'ampleur du fait de l'émergence des bactéries résistantes à de nombreux antibiotiques conventionnels [1]. L'utilisation inadéquate des antibiotiques aussi bien en médecine humaine que vétérinaire, favorise l'émergence des bactéries multi-résistantes (BMR) qui peuvent se propager des animaux vers les humains par le biais des aliments et ont des conséquences sanitaires et environnementales majeures immédiates et/ou tardives [2]. Les souches concernées sont résistantes à plusieurs familles d'antibiotiques et souvent sources d'impasses thérapeutiques [3].

Par ailleurs, les plantes constituent de véritables sources naturelles de composés bioactifs. Il a été rapporté que près de 74 % des plantes médicinales possèdent des propriétés d'intérêt pharmacologique [4]. Selon les statistiques de l'OMS, près de 80 % de la population dans les pays en développement

utilisent les plantes médicinales et cela a pris de l'ampleur à travers le monde [5]. Plusieurs travaux scientifiques ont rapporté l'intérêt et l'emploi des plantes médicinales en Afrique.

Aujourd'hui, l'évolution des esprits et le refus du "tout chimique" qui se manifeste de plus en plus, ouvrent un peu plus la porte au retour au naturel. Parmi les espèces végétales utilisées en médecine traditionnelle, *Lippia multiflora* (Moldenke) (Verbenaceae) et *Hyptis suaveolens* (L.) Poit (Lamiaceae) ont fait l'objet de plusieurs travaux scientifiques.

Cette étude vise à évaluer « in vitro », le potentiel antibactérien des huiles essentielles et des extraits éthanoliques (à 70%, avant et après l'extraction de l'huile essentielle), de feuilles de ces deux plantes sur la croissance de bactéries multi-résistantes. Pour atteindre cet objectif général, l'activité antibactérienne des extraits a été testée contre des souches bactériennes résistantes et puis d'éventuelle synergique entre l'activité de ces extraits et celle d'antibiotiques conventionnels a aussi été évaluée.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matières végétales

Le matériel végétal est constitué de feuilles fraîches de *H. suaveolens* et de *L. multiflora*, récoltées de juillet à septembre 2013 dans la région de Yamoussoukro (Côte d'Ivoire).

2.2. Souches bactériennes

Deux souches bactériennes résistantes à des antibiotiques conventionnels ont été testées. Il s'agit d'une de *Staphylococcus aureus* résistante à la méthicilline (*S. aureus* Meti-R) et d'une souche de *Pseudomonas aeruginosa* résistante à la ceftazidime et imipénème (*P. aeruginosa* Cefta/Imp-R). Outre ces souches résistantes, des souches de références correspondantes ont été aussi testées. Ce sont *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

2.3. Extraction

L'huile essentielle est extraite par entraînement à la vapeur à l'aide d'un appareil de type Clevenger. Outre l'huile essentielle, deux types d'extraits éthanoliques obtenus par macération de broyat de feuilles séchées ont aussi été testés. En effet, après séchage à l'ombre et à l'abri de la lumière solaire, des feuilles de *H. suaveolens* et de *L. multiflora* sont pulvérisées et tamisées pour donner un broyat (broyat 1). Après l'extraction de l'huile essentielle, le tourteau de feuilles est séché à nouveau dans les mêmes conditions et traité comme précédemment pour donner un autre broyat (broyat 2).

2.4. Préparation des échantillons

L'huile essentielle (HE) est mélangée au Tween 80 (Merck-Schuchardt) dans la ration Tween/HE (1/9) comme décrit par Oussou et al. [6].

Les extraits solides (Eeth.1 et Eeth.2) sont dissouts dans un mélange DMSO/eau distillée (1/13 (v/v)) et les antibiotiques (Oxacilline (Medicef, Tunisie) et Ofloxacine (Sanofi aventis, France)) sont dissouts dans mélange essentiel huile/Tween 80.

2.5. Activités antibactériennes

L'activité antibactérienne en milieu solide est évaluée à l'aide de puits réalisés dans de la gélose Mueller-Hinton (MH) (Bio-Rad, France). Le diamètre d'inhibition de la croissance bactérienne est déterminé après une incubation à 37°C pendant 18 à 24 heures.

Les Concentrations Minimale Inhibitrice (CMI) et Bactéricide (CMB) sont déterminées par la double dilution à l'eau distillée. L'inoculum bactérien préparé dans du bouillon Muller-Hington est mélangé à l'extrait.

3. Résultats et discussion

3.1. Activités antibactériennes des extraits en milieu gélosé

Le tableau 1 présente les résultats des activités antibactériennes des extraits en milieu solide. L'extrait Eeth.1 de feuilles de *H. suaveolens* inhibe la croissance bactérienne avec des diamètres d'inhibition qui varient de 16 à 24 mm. Celui de feuilles de *L. multiflora* inhibe la croissance bactérienne avec des diamètres allant de 15 à 24 mm.

Les huiles essentielles extraites de feuilles de *H. suaveolens* et de *L. multiflora* inhibent la croissance bactérienne avec des diamètres variant de 0 à 16 et 20 à 28 respectivement.

Après l'extraction de l'huile essentielle, les extraits Eeth.2 ont inhibé la croissance bactérienne avec diamètres qui varient de 20 à 30 pour *H. suaveolens* et de 17 à 21 mm pour *L. multiflora*.

L'analyse comparative montre que l'extrait Eeth.2 de feuilles de *H. suaveolens* inhibe plus fortement la croissance bactérienne que tous les autres extraits hydroéthanoliques. Cependant, l'huile essentielle de feuilles de *L. multiflora* a meilleure activité antibactérienne que celle de *H. suaveolens*.

Tableau 1 : Diamètre d'inhibition de la croissance bactérienne des huiles essentielles et des extraits éthanoliques Eeth.1 et Eeth.2 de feuilles de *H. suaveolens* et de *L. multiflora*

		Diamètres de la zone d'inhibition (mm)			
		Souches bactériennes			
Plants	Extraits	<i>S. aureus</i> Méti-R	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>P.</i> <i>aeruginosa</i> Ceft/Imp-R	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
<i>Hyptis suaveolens</i>	Eeth.1	24	24	16	20
	HE	13	16	0	0
	Eeth.2	25	30	20	22
<i>Lippia multiflora</i>	Eeth.1	24	22	15	18
	HE	23	25	28	20
	Eeth.2	21	18	17	18

3.2. Paramètres antibactériens des extraits en milieu liquide

Les tableaux 2 et 3 présentent les paramètres antibactériens (MIC et MBC) des extraits Eeth.1 et Eeth.2 et des huiles essentielles de feuilles de *H. suaveolens* et de *L. multiflora*.

Tous les extraits de feuilles de *H. suaveolens* ont un effet bactéricide. Cependant, l'extrait Eeth.2 a des meilleures activités antibactériennes (CMI = 0,78 mg/mL et CMB = 1,56 mg/mL) contre les deux souches résistantes (*S. aureus* Meti-R et *P. aeruginosa* Ceft/Imp-R).

L'huile essentielle de *L. multiflora* donne la meilleure activité antibactérienne sur toutes les souches bactériennes avec MIC = MBC = 0,9 mg/mL (tableau 3).

La forte activité de l'extrait Eeth.2 pourrait être expliquée par une concentration des composés bioactifs non volatils, après extraction de l'huile essentielle. En effet, l'huile essentielle extraite peut contenir des molécules capables d'inhiber toute action bactéricide des molécules bioactives non volatiles. Les résultats obtenus pourraient également révéler le caractère thermostable des molécules antibactériennes de cette plante ou l'effet positif de la température dans la conversion de certaines molécules en composés plus actifs, justifiant le choix de décoction dans l'usage traditionnel [7].

La faible activité de l'huile essentielle des feuilles de *H. suaveolens* pourrait s'expliquer par sa mauvaise diffusion dans la gélose., Selon Fazeli *et al* [8], la méthode de diffusion à partir de puits sur la gélose est la plus adaptée à l'étude de l'activité des extraits aqueux et organiques. Cependant, l'intense activité antibactérienne de l'huile essentielle de feuilles de *L. multiflora* pourrait s'expliquer par sa forte teneur en carvacrol et en thymol [9].

Tableau 2 : Paramètres antibactériens de l'huile essentielle et des extraits éthanoliques Eeth.1 et Eeth.2 de feuilles de *H. suaveolens*

Paramètres antibactériens (mg/mL)												
Extraits	<i>S.aureus</i> Meti-R			<i>S.aureus</i> ATCC 25923			<i>P. aeruginosa</i> Ceft/Imp-R			<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853		
	CMI	CMB	CMB /CMI	CMI	CMB	CMB /CMI	CMI	CMB	CMB /CMI	CMI	CMB	CMB /CMI
Eeth.1	3.12	6.25	2	3.12	12.50	4	12.50	12.50	1	3.12	12.50	4
HE	5.37	10.75	2	5.37	10.75	2	10.75	10.75	1	10.75	10.75	1
Eeth.2	0.78	1.56	2	3.12	3.12	1	0.78	1.56	2	3.12	3.12	1

Tableau 3 : Paramètres antibactériens de l'huile essentielle et des extraits éthanoliques Eeth.1 et Eeth.2 de feuilles de *L. multiflora*

Paramètres antibactériens (mg/mL)												
-----------------------------------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Extraits	<i>S.aureus</i> Meti-R			<i>S.aureus</i> ATCC 25923			<i>P. aeruginosa</i> Ceft/Imp-R			<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853		
	CMI	CMB	CMB /CMI	CMI	CMB	CMB /CMI	CMI	CMB	CMB /CMI	CMI	CM B	CMB /CMI
Eeth.1	3.12	12.5	4	6.12	12.5	2	3.12	25	8	1.56	25.0	16
HE	0.90	0.90	1	0.90	0.90	1	0.90	0.90	1	0.90	0.90	1
Eeth.2	12.50	12.5	1	3.12	12.5	4	12.5	>25	-	6.25	>25	-

3.3. Activités antibactériennes du mélange Huile essentielle-antibiotique

Le tableau 4 présente l'activité antibactérienne des antibiotiques mélangés à l'huile essentielle. Le diamètre d'inhibition de la croissance bactérienne des deux antibiotiques variant de 23 à 40 mm pour l'Oxacilline (Ox) et de 33 à 42 mm pour l'Ofloxacine (Of). Les combinaisons huiles essentielles-antibiotiques montrent une action synergique entre l'Ofloxacine et les deux huiles essentielles sur toutes les souches bactériennes testées. La plus forte inhibition de la croissance des souches cliniques est produite par la combinaison Of-HE de *Lippia multiflora* avec des diamètres qui varient de 33 à 58 et 40 à 60 mm respectivement contre *S. aureus* Meti-R et *P. aeruginosa* Ceft/Imp-R. L'association de ces huiles essentielles avec l'ofloxacine amplifie l'activité antibactérienne de ce dernier contre ces souches bactériennes résistantes.

P. aeruginosa, bactéries à Gram négatif ont été moins sensibles. Les bactéries GRAM négatif résistent aux biomolécules que les bactéries à Gram positif [10]. Cette résistance serait liée à la présence de la couche de lipopolysaccharide (LPS) qui fonctionnerait comme une barrière efficace contre les biomolécules [11].

Les résultats de nos travaux pourraient justifier l'utilisation traditionnelle de *H. suaveolens* en médecine traditionnelle pour les traitements de diverses pathologies [12]. Les plantes médicinales dont *Hyptis suaveolens* et *Lippia multiflora*, renferment de nombreux principes bioactifs qui pourraient apporter une réponse thérapeutique adaptée aux populations face à l'émergence des bactéries résistantes à de nombreux antibiotiques conventionnels [1]. La forte activité antibactérienne de l'huile essentielle de *L. multiflora* a été mise en évidence par plusieurs auteurs.

En effet, Bassolé et al. [13] ont montré l'activité bactéricide de l'huile essentielle de *L. multiflora* contre plusieurs souches bactériennes pathogènes dont *S. aureus* et *P. aeruginosa*.

Les tests de recherche d'éventuelle synergie d'action a montré une forte synergie entre l'activité antibactérienne des deux huiles essentielles et l'ofloxacine contre la croissance de *S. aureus* Méti-R. De telles activités synergiques entre différents composés chimiques ont été démontrées [13]. L'interaction (synergie, antagonisme) entre deux composés dépend de la concentration [14] et de la sensibilité du micro-organisme cible [15].

Cet effet synergique pourrait s'expliquer par une désagrégation de la membrane de la bactérie par les molécules bioactives contenues dans l'huile essentielle, détruisant tous les sites de résistances de la souche aux antibiotiques. Ce qui renforce l'activité antimicrobienne de l'antibiotique [16].

La synergie pourrait augmenter les propriétés antimicrobiennes de l'ofloxacine par modification de la composition chimique des huiles essentielles et les propriétés lipophiliques de cet antibiotique [17]. La présente étude a démontré la capacité de la combinaison de l'ofloxacine avec l'huile essentielle de *H. suaveolens* et *L. multiflora* à inhiber la croissance de ces souches résistantes.

Tableau 4 : Diamètre d'inhibition de la croissance bactérienne des huiles essentielles mélangées à des Antibiotiques conventionnels

		Diamètres d'inhibition (mm)			
		Souches bactériennes			
Plantes	Extraits	<i>S.aureus</i> Meti-R	<i>S.aureus</i> ATCC 25923	<i>P. aeruginosa</i> Ceft/Imp-R	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853
<i>Hyptis suaveolens</i>	HE	13	16	0	0
	Ox	23	40	-	-
	Of	33	40	40	42
	Ox-HE	38	40	40	46

	Of-HE	46	58	54	44
<i>Lippia multiflora</i>	HE	23	25	28	20
	Ox	23	40	-	-
	Of	33	42	40	42
	Ox-HE	24	40	40	20
	Of-HE	50	44	60	54

4. Conclusion

Après l'extraction de l'huile essentielle, les résidus de feuilles de *Hyptis suaveolens* contient encore des molécules bioactives. Le mélange de l'huile essentielle de *L. multiflora* à l'ofloxacin renforce l'activité antibactérienne de ce dernier contre les deux souches résistantes testées.

Il serait intéressant de déterminer la composition de l'extrait éthanolique obtenu après l'extraction (Eeth.2) de l'huile essentielle afin de la comparer à celle de l'extrait éthanolique avant extraction de l'huile essentielle (Eeth.1) et comprendre le mécanisme de formation de nouvelles molécules bioactives lors du chauffage des feuilles.

5. Références bibliographiques

- [1] Soro D., Kone M. W. et Kamanzi K., (2010). Evaluation des activités antimicrobiennes et anti-radicaux libres de quelques taxons bioactifs de Côte d'Ivoire. *European Journal of Scientific Research*, 40: 307-317.
- [2] Masterton R., (2008). The importance and future of antimicrobial surveillance studies. *Clinical Infections Disease*, 47 (1) : 21-31.
- [3] Akoua-Koffi C., Guessenn N., Gbonon V., Faye-Ketté H. et Dosso M., (2004). La méticillino-résistance de *Staphylococcus aureus* isolés à Abidjan (1998-2001): un nouveau problème en milieu hospitalier. *Médecine et maladies infectieuses*, 34 : 132-136.
- [4] Ginalin A. H. et Rahman A. U., (2005). Trends in ethnopharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, 100: 43-49.
- [5] Elujoba A. A., Odeleye O. M. et Ogunyemi C. M., (2005). Traditional medicine development for medical and dental primary health care delivery system in Africa. *African Journal Traditional Complementary and Alternate Medicine*, 2: 46-61.
- [6] Oussou K. R.; Kanko C.; Guessenn N.; Yolou S.; Koukoua G.; Dosso M.; N'guessan Y. T., Figueredo G. et Chalchat J. C., (2004). Activités antibactériennes des huiles essentielles de trois plantes de Côte d'Ivoire. *C.R. Chimie*, 7 : 081-1086.
- [7] Magassouba F. B., Diallo A., Kouyaté M., Mara F., Mara O., Bangoura O., Camara A., Traoré S., Diallo A. K., Zaoro M., Lamah K., Diallo S., Camara G., Traoré S., Kéita A., Camara M. K., Barry R., Kéita S., Oularé S. et Barry M. S., (2007). Ethnobotanical survey and antibacterial activity of some plants used in Guinean traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 114: 44-53.
- [8] Fazeli M., Amin G., Ahmadian-Attari M., Ashtiani H., Amalfar H.J and Samadi N (2007)., *Food Control*, 18, 646.
- [9] Iwalokun A., Otunba A. and Oyenuga O. (2012), *Current Ressources Journal of Biological Sciences*, 4(3), 265.
- [10] Derwich E., Benziane Z. et Boukir A., (2010). Chemical composition and antibacterial activity of leaves essential oil of *Laurus nobilis* from Morocco. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3 (4): 3818-3824.
- [11] Upadhyay R. K., Dwivedi P. et Ahmad S., (2010). Screening of antibacterial activity of six plant essential oils against pathogenic bacterial strains. *Asian Journal of Medical Sciences*, 2 (3): 152-158.
- [12] Kuhnt M., Probstle A., Rimpler H., Bauer R. et Heinrich M., (1995). Biological and Pharmacological activities and further constituents of *Hyptis verticillata*, *Planta Medica*, 61 (03): 227-232.
- [13] Bassolé I.H.N., Méda A.L., Bayala B., Tirogo S., Franz C., Novak J. Nebié R.C. et Dicko M.H., (2010). Composition and antimicrobial activities of *Lippia multiflora* Moldenke, *Mentha x piperita* L. and *Ocimum basilicum* L. Essential oils and their major monoterpene alcohols alone and in combination. *Molecules*, 15 (11) : 7825-7839.
- [14] Gallucci M. N., Oliva M., Casero C., Dambolena J., Luna A., Zygodlob J. et Demoa M., (2009). Antimicrobial combined action of terpenes against the food-borne microorganisms *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*. *Flavour and Fragrance Journal*, 24: 348-354.

Etude phytochimique, évaluation de l'activité antiradicalaire et valorisation de l'épluchure et de l'amande du noyau de deux variétés de mangue (*Mangifera indica* L.)

Guehi Monnou Sophie¹, Touré Abdoulaye¹, Kouakou Kouamé Frederic¹, Boni Ahoussi Pascal¹, Kabran Aka Faustin², Touré Daouda¹, Konan Dibi Jacques², Ballo Daouda², Coulibaly Adama³, Kablan Ahmont Landry Claude^{1,2}

¹Laboratoire de Biotechnologie, Valorisation des agroressources et substances naturelles, UFR Sciences Biologiques, Université Peleforo GON COULIBALY, Korhogo, Côte d'Ivoire

²Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière, UFR SSMT, Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY, Abidjan, Côte d'Ivoire.

³Laboratoire de pharmacodynamie biochimique, UFR Biosciences, Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY, Abidjan, Côte d'Ivoire.

RÉSUMÉ

Ce travail vise à justifier l'utilisation des variétés Kent et Amélie dans l'alimentation humaine. Les différents extraits ont été obtenus à partir des farines de l'épluchure et de l'amande du fruit par macération. Les réactions en tube et la Chromatographie sur Couche Mince ont été utilisés pour le criblage phytochimique. L'évaluation de l'activité antiradicalaire des extraits a été effectuée par la méthode DPPH sur couche mince et par spectrophotométrie. Le criblage phytochimique a permis de révéler la présence des polyphénols, des stérols, des terpènes, des alcaloïdes dans les amandes et des traces de flavonoïdes dans les épluchures. Concernant les activités antiradicalaires, les CI_{50} sont respectivement de $2,10 \pm 0,08 \mu\text{g/mL}$, $3,80 \pm 0,15 \mu\text{g/mL}$ et $2,90 \pm 0,18 \mu\text{g/mL}$ pour les extraits aqueux de l'amande d'Amélie, aqueux de l'amande de Kent et hydro-éthanolique de l'amande de Kent. Elles présentent des activités meilleures que celle de la vitamine C ($CI_{50} = 6,30 \pm 0,38 \mu\text{g/mL}$). Les pains composés confectionnés à partir des farines des épluchures et amandes, ont un pouvoir antiradicalaire plus bas que la vitamine C. Nous envisageons augmenter la concentration de l'extrait actif afin d'obtenir un pain plus actif.

Mots clés : mangue, épluchure, amande, antiradicalaire

Abstract

This work aims to justify the use of the Kent and Amélie varieties in human food. The different extracts were obtained from the peel and kernel flours of the fruit by maceration. Tube reactions and Thin Layer Chromatography were used for phytochemical screening. Evaluation of the free radical scavenging activity of the extracts was carried out by DPPH thin layer method and spectrophotometry. The phytochemical screening revealed the presence of polyphenols, sterols, terpenes, alkaloids in the almonds and traces of flavonoids in the peels. Concerning the antiradical activities, the IC_{50} are respectively $2.10 \pm 0.08 \mu\text{g/mL}$, $3.80 \pm 0.15 \mu\text{g/mL}$ and $2.90 \pm 0.18 \mu\text{g/mL}$ for the aqueous extract of Amélie almond, aqueous extract of Kent almond and hydro-ethanolic extract of Kent almond. They show better activities than vitamin C ($IC_{50} = 6.30 \pm 0.38 \mu\text{g/mL}$). Compound breads made from peel and almond flours have a lower antiradical activity than vitamin C. We plan to increase the concentration of the active extract in order to obtain a more active bread.

Key words: mango, peel, almond, antiradical

INTRODUCTION

La flore ivoirienne contient une multitude de plantes qui contribuent à la satisfaction des besoins nutritionnels, médicinaux et à l'activité économique des populations [1]. L'étude des plantes possédant des propriétés potentiellement valorisables dans les domaines médicinal et alimentaire est un sujet d'actualité. Parmi les potentialités biologiques reconnues des plantes, l'activité antioxydante présente un intérêt de plus en plus grandissant à cause des rôles importants que jouent les composés antioxydants, retrouvés au niveau des plantes, dans le traitement et la prévention des maladies du stress oxydant [2] telles que les hypertensions artérielles, les cancers, le diabète, les artérioscléroses, les rhumatismes, la goutte, la maladie d'Alzheimer, les maladies cardiovasculaires, respiratoires et inflammatoires [3]. *Mangifera indica* est une ressource naturelle insuffisamment valorisée en Côte d'Ivoire. Cette plante, cultivée pour la douce saveur de son fruit (la mangue), pourrait constituer une alternative importante en agro-industrie grâce à sa composition physico-chimique et ses propriétés nutritionnelles [4]. Malgré l'importance nutritionnelle de la mangue et l'intérêt alimentaire que lui accordent les populations, son utilisation est limitée par d'énormes pertes post-récolte [5]. L'amande du noyau et la peau (l'épluchure) de mangue représentent la plus grande partie de ces pertes poste-récolte car elles ne sont pas

consommées. En effet, la pulpe est le seul organe consommé chez *M. indica*. L'amande, ainsi que la peau de la mangue après l'extraction de la pulpe, sont généralement abandonnés dans la nature et constituent un déchet agricole, posant un problème de salubrité. Il serait donc intéressant de valoriser ces différents sous-produits de la mangue au plan nutritionnel et thérapeutique. Certaines études effectuées sur l'amande et la peau du fruit ont montré la présence de composés polyphénoliques [6] Ces composés oxygénés sont connus pour leurs vastes domaines d'activités biologiques. Cependant, très peu d'études ont été réalisées sur les espèces de la Côte d'Ivoire. D'où l'objectif de cette étude est de valoriser les amandes et les épiluchures de mangues, peu utilisées par les communautés rurales de Côte d'Ivoire.

MATERIEL ET METHODES

1-Matériel

1-1-Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué de deux (2) variétés de mangues achetées sur le marché de la ville de Korhogo. Ce sont la variété "Amélie" (Am) qui est une variété de mangues de calibre moyen, de forme arrondie et de couleur jaune orangé à la maturité et la variété "Kent" (Ke), de grosses mangues de forme plus ou moins arrondie, de couleur rouge jaunâtre à la maturité.

1-2-Produits chimiques

Les produits chimiques (solvants, réactifs et éluant) sont de grade analytique. Les solvants constitués du méthanol, d'éthanol, d'acétate d'éthyle et du dichlorométhane. Les réactifs utilisés sont : la vanilline sulfurique, le réactif de Dragendorff, le NaOH, le chlorure de fer (FeCl_3) à 2 %, le chlorure d'aluminium (AlCl_3) et le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH). La vitamine C et la quercétine sont les molécules de références utilisées.

2-Méthodes

2-1-Traitement des échantillons : Après achat, les mangues ont été soigneusement nettoyées puis épiluchées et dénoyautées à l'aide d'un couteau inoxydable. Les épiluchures de mangues ont été nettoyées (débarrassées de la pulpe adhérente). L'amande du noyau a été extraite après quatre (4) jours de séchage au soleil. Les épiluchures et l'amande du noyau des mangues ont été découpées en petits morceaux, séchées à l'abri du soleil dans une salle aérée et à température ambiante (30°C) pendant quinze (15) jours. Après séchage elles (Les épiluchures et les amandes) ont été broyées puis tamisées ($10\mu\text{m}$) et conditionnées dans les pots en plastiques.



Figure 1: farines des sous-produits de mangue (a: farine d'épiluchures ; b: farine d'amandes)

2-2-Préparation des extraits :

L'extraction est la séparation des parties actives de plantes en utilisant des solvants sélectifs au moyen de procédures standard [7]. Afin d'extraire les constituants des farines, nous avons utilisé la macération comme méthode d'extraction. Les farines ont séjournées dans les différents solvants (eau distillée (100%), eau/éthanol (30%/70%) et hexane (100%)) durant 24 heures.

Extrait aqueux : Consiste à introduire une masse de 7g de la farine de chaque farine (épluchure ou amande) de chaque variété dans 70 mL d'eau distillée en raison de 1g matière par 10 mL on laisse macérer pendant 24 heures à température ambiante du laboratoire. Après filtration du surnageant sur coton hydrophile, les filtrats sont étuvés à 50°C afin d'obtenir les extraits bruts aqueux (E_{Aq}).

Extrait hydro-éthanolique : 7g de chaque farine sont macérés dans 70 mL du mélange (eau/éthanol : 30%/70% = 21 mL d'eau + 49 mL d'éthanol = 70 mL) en raison de 1g matière par 10 mL pendant 24 heures à température du laboratoire. Après filtration, les filtrats sont étuvés à 50°C pour obtenir des extraits bruts hydro-éthanolique (E_{HE}).

Extrait hexanique: une masse de 7g de chaque farine est macérer dans 70 mL d'hexane (100%) à température ambiante du laboratoire. Après 24 heures les solutions obtenues sont filtrées et les filtrats sont évaporés à l'étuve (50°C) afin d'obtenir des extraits bruts hexaniques (E_{He}).

2-3-Détermination des paramètres phytochimiques

Le criblage phytochimique est une méthode dont le principe est la mise en évidence la présence des groupes de familles chimiques présentes dans un échantillon donné en se basant sur l'analyse qualitative, soit sur la formation de complexes insolubles en utilisant les réactions de précipitation, soit sur la formation de complexes colorés, en utilisant des réactions de coloration [8].

Les paramètres phytochimiques ont été déterminés selon différentes méthodes. Concernant les alcaloïdes, polyphénols et anthraquinones la méthode de [9] a été utilisée avec différents réactifs. En effet deux (2) mg d'extrait sont dissouts dans 2 mL d'éthanol. Après agitation, 2 gouttes de chaque réactif (Dragendorff ou hydroxyde de sodium (NaOH) ou trichlorure de fer (FeCl₃)) sont ajoutées. La présence de coloration orange caractérise les alcaloïdes, la coloration rose-violette ou rouge indique la présence d'anthraquinones libre et la coloration rouge ou bleu noirâtre indique présence de composés polyphénoliques.

Les flavonoïdes ont été détectés selon [10] en délayant deux (2) mg de l'extrait dans 2 mL d'éthanol puis 2 à 3 gouttes d'une solution de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) à 1%. L'apparition d'une couleur jaune verte indique la présence des flavonoïdes.

S'agissant des tanins, dans les tubes à essai deux (2) mg de chaque extrait ont été dissouts dans 2 mL d'alcool (EtOH) et 1 mL de réactif de Stiasny a été ajouté. Après homogénéisation les tubes sont portés au bainmarie (80°C pendant 30 min). La formation d'un précipité dans les tubes révèle la présence de tanins galliques selon [11].

Pour détecter les saponines la méthode de élaborée par [12] a été utilisée. Dans des tubes à essai contenant 5 mL d'eau distillée, nous avons introduit 1g de nos différents extraits puis avons agité vigoureusement. La formation d'une mousse (hauteur supérieur de 1cm) stable, persistant pendant 15 min, indique la présence de saponines.

2-4-Analyse par Chromatographie sur Couche Mince (CCM) des extraits : La Chromatographie sur Couche Mince (CCM) est réalisée selon [13]. Cette méthode prend en compte le criblage phytochimique et l'évaluation du pouvoir antiradicalaire. Les extraits ont été spotés sur la plaque (ligne de dépôt). Après séchage, les plaques sont introduites dans une cuve à élution contenant le solvant de migration (éluant) approprié à chaque extrait, et fermé pour empêcher l'évaporation du solvant. Une fois l'élution terminée, les plaques sont de nouveau séchées à l'air libre. Elles sont ensuite révélées avec des réactifs spécifiques aux groupes de composés recherchés et observées au visible.

2-5-Evaluation du pouvoir antiradicalaire par spectrophotométrie : La mesure de l'activité antiradicalaire in vitro des extraits a été effectuée par le test au 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) selon la méthode de [14]. Après préparation du DPPH dans méthanol à 0,1 mg/mL de concentration, 2 mg de l'extrait sec de chaque échantillon a été dissout dans 4 mL de méthanol pour obtenir une solution mère (0,5 mg/mL). Ensuite, une dilution en cascade ou gamme de dilution est réalisée. Puis deux (2) mL de la solution méthanolique de DPPH sont ajoutés dans chaque tube. Après une incubation de 30 min à l'obscurité et à la température du laboratoire, les absorbances ont été lues à 517 nm contre un témoin (blanc) composé de 2 mL de la solution de DPPH et de 2 mL de méthanol. Les solutions de la vitamine C et la quercétine (utilisées comme molécules de référence) ont été préparés dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons. Le pourcentage d'inhibition (I(%)) du radical DPPH a été calculé selon la formule de [15] : $I(\%) = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100$

2-6-Analyse des données: Les essais ont été réalisés en triple. Les données obtenues ont été analysées à l'aide du logiciel Excel. Celui-ci a permis de déterminer les moyennes ainsi que l'écartype des différentes modalités. Pour l'analyse de variances (ANOVA) multiples. Les différences entre les moyennes ont été déterminées selon le test de Tukey au seuil de 5 % ($P < 0,05$ est considéré significatif). Les représentations graphiques des données ont été réalisées grâce au logiciel Graph Pad Prism 8.0.2.

RESULTATS ET DUSCUSSION

Le tableau I Présente les paramètres phytochimiques des différents extraits (E_{Aq} , E_{HE} et E_{He}) des amandes et les épiluchures séchées de Amélie et Kent. Les tests de caractérisation des tanins, des saponines ont été effectués uniquement en tube. Par contre, le test de détection des stérols/terpènes, a été réalisé sur plaque CCM. Tous les autres tests ont été réalisés aussi bien par les réactions en tube que sur plaques CCM.

Les résultats montrent la présence de polyphénols dans tous les extraits à l'exception des extraits hexaniques des épiluchures de Kent. En effet, on observe une forte présence de ces composés chimiques dans les extraits aqueux et hydro-éthanoliques des amandes et une présence dans les mêmes extraits des épiluchures. Cette teneur en composés phénoliques pourrait conférer la présence de certaines propriétés biologiques intéressantes aux sous-produits de ces mangues telles que les activités antioxydantes [16], anticancéreuses [17], anti-inflammatoires et antibactériennes [18]. En effet, les polyphénols sont doués de ces activités biologiques énumérées ci-dessus. Les stérols et terpènes sont en abondance dans les extraits hexaniques des deux parties de nos mangues ainsi que dans les extraits aqueux des amandes de ces variétés de mangues. Ils sont présents dans les extraits aqueux des épiluchures et également dans tous les extraits hydro-éthanoliques. Dans les extraits hexaniques, on observe une présence d'alcaloïdes dans les amandes et des traces de flavonoïdes dans les épiluchures des deux variétés de mangue (Kent et Amélie). Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par [19] dans leurs études respectives sur les amandes et sur les peaux mûres de mangue. Les tanins, les anthraquinones et les saponines sont absents dans tous les extraits (E_{Aq} , E_{HE} et E_{He}). Ces résultats se rapprochent des résultats obtenus par [20] pour les épiluchures, cependant ils sont contraires de ceux obtenus par [21] dans le cas des amandes. Ces différences pourraient s'expliquer d'une part par les différentes méthodes d'extraction ou les choix des solvants d'extractions utilisées, et d'autre part par la zone géographique, la période de récolte ou les conditions de stockage des mangues [22].

Tableau I: Composés phytochimiques des extraits des deux parties du fruit de *Mangifera indica*

Familles des composés chimiques	Extraits											
	EKe			EAm			AKe			AAm		
	E_{Aq}	E_{HE}	E_{He}	E_{Aq}	E_{HE}	E_{He}	E_{Aq}	E_{HE}	E_{He}	E_{Aq}	E_{HE}	E_{He}
Stérols/terpènes	+	±	++	+	±	++	++	+	++	++	+	++
Alcaloïdes	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+
Polyphénols	+	++	-	+	+	-	++	++	±	++	++	+
Flavonoïdes	-	-	±	-	-	±	-	-	-	-	-	-
Tanins	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Anthraquinones	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Saponines	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Forte présence (abondance) = ++ ; Présence = + ; Trace = ± ; Absence = -

EKe : Epluchure de Kent EAm : Epluchure d'Amélie AKe : Amande de Kent AAm : Amande d'Amélie
 EAq : Extrait Aqueux EHE : Extrait Hydro-Ethanolique EHe : Extrait hexanique

L'évaluation de l'activité antiradicalaire des extraits a été effectuée par la méthode DPPH sur couche mince et par spectrophotométrie. Sur couche mince, l'apparition de couleur jaune pâle sur fond violet, a été observée dans tous les extraits de nos organes de mangue. Les extraits aqueux et hydroéthanoliques montrent les plus grandes taches antiradicalaires. Cela pourrait s'expliquer par leur richesse en substances polyphénoliques observée grâce aux réactions en tube et à la Chromatographie sur Couche Mince [23]. Ces résultats sont en accord avec les travaux de [24], qui ont rapporté l'activité antioxydante par la méthode de DPPH de la peau de mangue. Dans les extraits hexaniques, les amandes de mangues ont montré des spots jaunes pâles plus ou moins visible par rapport aux épluchures. Cependant ces résultats sont conformes aux résultats de [25]. Dans son étude, sur le chromatogramme CCM des fractions polaires des amandes de *Mangifera indica*, il obtient des tâches jaunes sur un fond violet, ce qui est une indication intéressante pour une activité antioxydante des extraits des amandes de *Mangifera indica*.

Les figures 1 et 2 présentent l'activité antiradicalaire par spectrophotométrie des extraits aqueux et hydroéthanoliques de deux organes de mangue (épluchure et amande) des variétés "Kent" et "Amélie", ainsi que des filtrats d'extraits des pains composés à base de ces organes de mangue. Ces résultats montrent que les extraits possèdent une activité antiradicalaire dose dépendante. Les extraits : aqueux de l'amande d'Amélie (EAqAAm), aqueux de l'amande de Kent (EAqAKE) et hydro-éthanolique de l'amande de Kent (EHEAKE), représentent les extraits les plus actifs avec des CI₅₀ de 2,10±0,08 µg/mL, 3,80±0,15 µg/mL et 2,90±0,18 µg/mL respectivement. Comparativement à la référence (vitamine C) qui a enregistré une CI₅₀ de 6,30±0,38 µg/mL, ces valeurs des CI₅₀ montrent que ces extraits possèdent un potentiel antiradicalaire excellent. En effet, une étude réalisée par [25] a suggéré que les molécules polaires présentes dans les extraits végétaux contribuent à l'augmentation de l'activité antiradicalaire. Cependant, les extraits hydroéthanoliques de l'amande d'Amélie (EHEAAm) et de ses épluchures (EHEEAm) ont montré une activité antiradicalaire importante avec des CI₅₀ de l'ordre de 13,60±0,18 µg/mL et 20,60±0,13 µg/mL respectivement. Cette activité antiradicalaire est nettement inférieure à celle de la référence (CI₅₀= 6,30±0,38 µg/mL). Car une valeur plus faible de la CI₅₀ indique une activité antioxydante plus élevée [26]. Bien que les CI₅₀ de l'amande d'Amélie (EHEAAm) et de ses épluchures (EHEEAm) soient inférieures aux CI₅₀ de la vitamine C (référence) ceux-ci peuvent être considérés comme des sources non négligeables en composés à pouvoir antiradicalaires. Le pouvoir antiradicalaire des organes de la mangue pourrait leurs ouvrir des voies d'exploitation en alimentation et en cosmétique. Par contre le pain formuler avec la farine de blé 100% et les pains composés de farine de blé et de farine d'épluchure ou d'amande n'ont pas montré d'activité antioxydante intéressante. Tous les pains sont dotés d'une activité antiradicalaire très faible. La diminution de l'activité antiradicalaire des pains composés par rapport aux extraits pourrait être due d'une part à la présence du blé car le pain au blé 100% a enregistré des pourcentages d'inhibition très faible, d'autre part à la température à laquelle les pains ont subis (200°C/30 min), qui aurait influencé les phytomolécules présentes dans les farines.

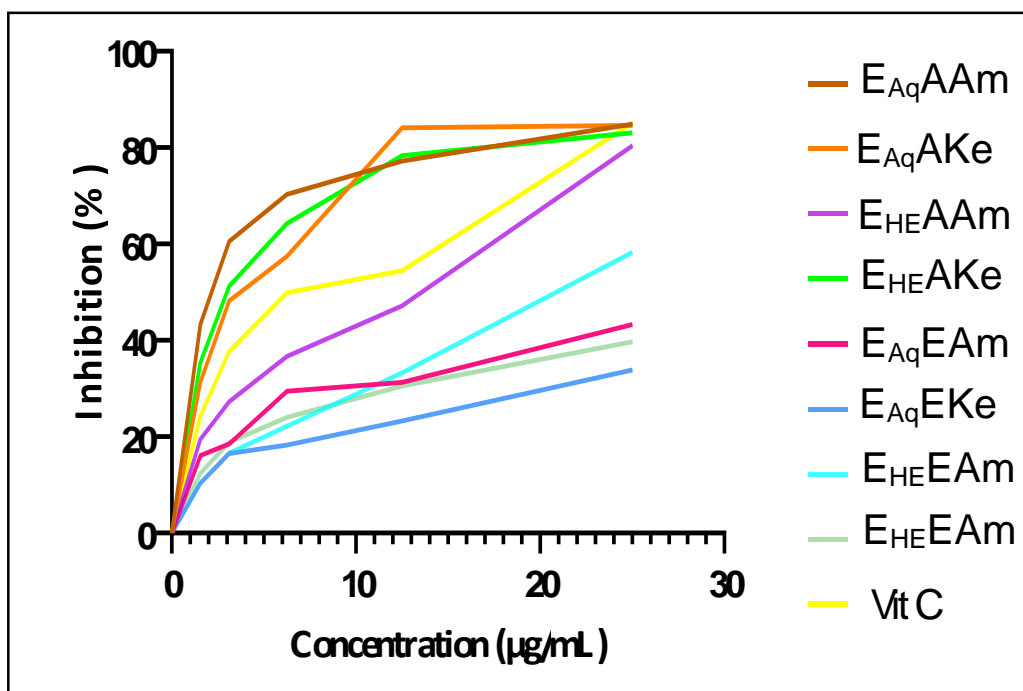


Figure 1 : inhibition du DPPH par les différents extraits des épiluchures et d'amades de de *Mangifera*

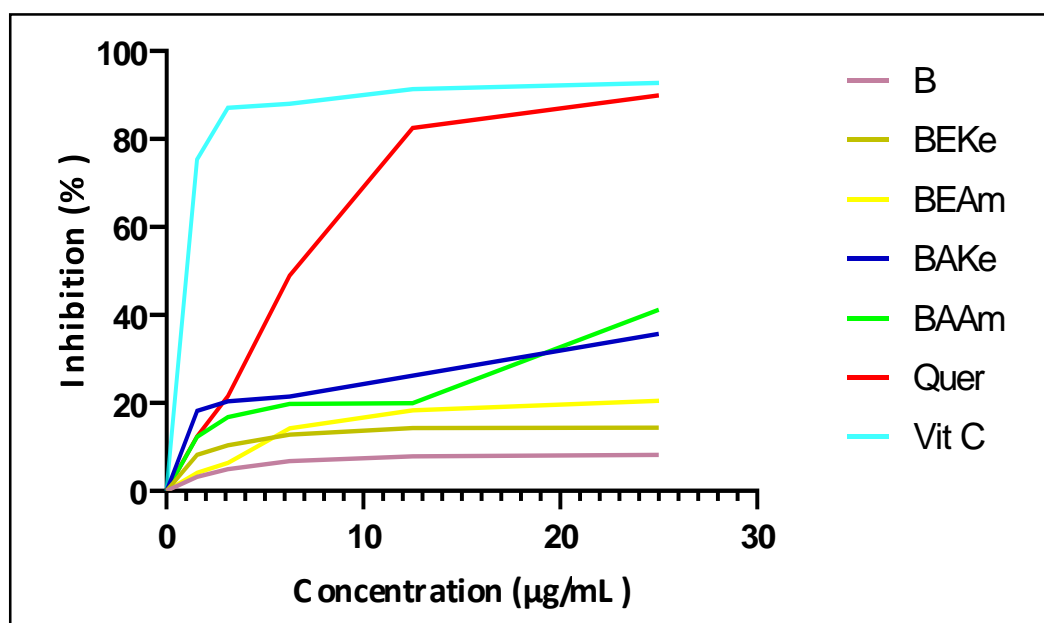


Figure 2 Inhibitions du DPPH par les pains composés et les références

CONCLUSION

La présente étude est une contribution à la valorisation des sous-produits du fruit de *Mangifera indica* (Anacardiaceae) cultivée à Korhogo (Nord de Côte d'Ivoire). Il ressort de cette étude que les résidus de mangue contiennent des phytochimiques tels que des polyphénols, des stérols et terpènes, des flavonoïdes, des alcaloïdes. Par contre, nous avons remarqué une absence de tannins, d'anthraquinones et de saponines. Ces résidus comportent donc des molécules à propriétés biologiques qui justifieraient leurs utilisations dans la médecine, l'alimentation et le cosmétique. Les amandes ont un pouvoir antiradicalaire meilleur que la référence (la vitamine C) contrairement aux pains composés qui ont

montré un faible pouvoir antioxydant. Il serait désirable d'augmenter la quantité de ces sous-produits dans le cadre de la panification.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] **Baumer, M.** Arbres, arbustes et arbrisseaux nourriciers en Afrique occidentale. ENDA Editions, Dakar, 1995, p. 260-266.
- [2] **Cole, G.M. ; Lim, G.P. ; Yang, F.;Teter, B. ; Begum, A. ; Ma, Q. ; Harris-White, M.E. ; Frautschy A.** Prevention of Alzheimer's disease: Omega-3 fatty acid and anti-oxidant interventions. *Neurobiology of Aging*, 2005, 26, S133–S136.
- [3] **Halliwell, B. ; Guteride, J.M.C. (1990).** Role of free radicals and catalytic metals ions in human disease: an overview. *Methods in enzymology*, 1990, 186, 1-85.
- [4] **Roos, Y. H.** Phase transition in Foods, 1995, Academic Press. London, UK.
- [5] **Kansci, G. ; Koubala, B. ; Mbome L. (2003).** Effect of rippening on the composition and suitability for jam processing of different varieties of mango (*Mangifera indica*). *African Journal of Biotechnology*, 2003, 2,9, 301-306.
- [6] **Riberio S., Barbosa L.** Phenolic compounds and antioxidant capacity of Brazilian mango. *Food chemistry*, 2008,110, 620-626.
- [7] **Philip P. Gerbino.**The Science and Practice of Pharmacy. *American journal of pharmaceutical education*, 2006, 70-71.
- [8] **Badiaga M.** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nuclea Latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse de doctorat, Université de Bamako 10 p., 2011.
- [9] **Harbone J.B. (1998).** Phytochemical Methods, A guide to modern techniques of plant analysis; New York, ISBN: 0-412-57260-5, Edition.
- [10] **Rosenman** Observations on the clinical use of visammin (khellin). *J. Amer. med. Ass.*, 1950, 143, 160-161.
- [11] **Ethel et Edith** A quantitative Tannin test. *Biochem. J.*, 1992, 16,4, 516-517.
- [12] **Ciulei I.** Practical manuals on the industrial utilization of chemical and aromatic plants. Methodology for analysis of vegetable drugs Ed. Ministry of chemical industry, Bucharest. 67 p, 1982.
- [13] **Benalileche, M. ; benalileche Y. (2016).** Essais bio-guidés du percolât de *Cinnamomum zeylanicum*. Mémoire de Master 2, Université des frères Mentouri, Constantine, Algérie, pp.13- 28, 2016.
- [14] **Velazquez, E. ; Tournier, H. A. ; Mordujovichole, B. P. ; Saavedra, G. ; Scinella, G.R.** Antioxydant activity of Paraguayan plant extracts. *Fitoterapia*, 2003, 74, 91-97.
- [15] **Miliauskas, G. ; Venskutonis, P. R. ; Van Beek, T.A.** Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food chem.*, 2004, 85, 231- 237.
- [16] **Liangliang, Z. ; Jiahong, C. ; Yongmei, W. ; Dongmei ,W. ; Man, X.** Phenolic Extracts from *Acacia mangium* bark and their antioxidant activities. *Molecules*, 2010, 15, 3567-3577.
- [17] **Nôthlings, U. ; Murpby, S. P. ; Wilkens, L. R. ; Henderson, B. E. ; Kolonel, L. N.** « Flavonols and pancreatic cancer risk: the multiethnic cohort study ». *Am. J. Epidemiol.*, 2007, 166, 8, 924-931.
- [18] **En-Qin, X. ; Gui-Fang, D. ; Ya-Jun, G. ; Hua-Bin, L.** « Biological Activities of Polyphenols from Grapes », *ni. J. Mol. Sei.*, 2010, 1, 2, 622-646.
- [19] **Kansci G., Koubala B., Mbome L. (2003).** Effect of rippening on the composition and suitability for jam processing of different varieties of mango (*Mangifera indica*). *African Journal of Biotechnology*, 2003, 2,9, 301-306.
- [20] **Sissoko F. K. (2012).** Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Musa acuminata* L., de *Mangifera indica* L., de *Boerhavia erecta* L. et de *Eclipta prostrata* L. Thèse de doctorat, Mali, 128p, 2012.
- [21] **Sofowora A.** Plantes Médicinales et Médecine Traditionnelle d'Afrique. Ed. Kartaland, 1996, 378 p.
- [22] **Hostettmann K.** Tout savoir sur les vertus thérapeutiques des fruits exotiques. Fabre SA, Lausanne, 2011, Paris. 112p.
- [23] **Shah, K. A. ; Patel, M. B. ; Patel, R. J. ; Parmar, P. K. (2010).** *Mangifera Indica* (Mango). *Pharmacognosy Reviews*, 2010, 4,7, 42–48
- [24] **Kassi A. B. B.** Contribution à l'étude phytochimique de *Santaloides afzelii* R.Br. (Connaraeae) et des amandes de *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae). Thèse de doctorat de l'Université Félix HOUPOUËT-BOIGNY- ABIDJAN, Côte d'Ivoire, 152 P, 2013.
- [25] **Kang, D.G. ; Yun, C.K. ; Lee H.S.** Screening and comparison of antioxidant activity of extracts of herbal medicines used in Korea. *Journal of Ethnopharmacol.*, 2003, 87, 231- 236
- [26] **Parakash, D. ; Upadhyay, G. ; Brahma, N. ; Singh, H-B.** Singh antioxidant and free radical-scavenging activities of seeds and agri-wastes of some varieties of soybean (*Glycine max*). *Food Chemistry*, 2007, 104,783-790.

Nouveaux composés naturels isolés de l'huile essentielle de feuilles de *Isolona dewevrei* (Annonaceae) de Côte d'Ivoire

Didjour Albert Kambiré^{1*}, Thierry Acafou Yapi², Ahmont Claude Landry Kablan¹, Zana Adama Ouattara³, Ange Bighelli⁴, Jean Brice Boti², Joseph Casanova⁴, Félix Tomi⁴.

¹UPR de Chimie Organique, Département de Mathématiques, Physique et Chimie, UFR des Sciences Biologiques, Université Péléforo Gon Coulibaly, BP 1328 Korhogo, Côte d'Ivoire.

²Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière, UFR Sciences des Structures de la Matière et Technologie, Université Félix Houphouët-Boigny, 22 BP 582 Abidjan, Côte d'Ivoire.

³Laboratoire de Chimie BioOrganique et de Substances Naturelles, Université Nangui Abrogoua, Abidjan, Côte d'Ivoire.

⁴UMR-CNRS 6134 SPE, Équipe Chimie et Biomasse, Université de Corse, 20 000 Ajaccio, France.

*auteur : dakambire@gmail.com

Résumé : Cette étude s'inscrit dans la continuation de la caractérisation chimique des plantes aromatiques et médicinales de Côte d'Ivoire. Elle vise la détermination structurale de plusieurs composés non identifiés dans cinq échantillons d'huile essentielle de feuilles de *Isolona dewevrei*. Des chromatographies répétitives sur colonne de gel de silice de l'huile essentielle, suivies de l'analyse des fractions par CPG-Ir, CPG-SM et RMN ¹³C, ont conduit à l'isolement de quatre composés. Leurs structures ont été élucidées par RMN 1D, 2D et CPG-QTOF-SM : (10βH)-1β,8β-oxido-cadin-4-ène (**51**), 4-méthylène-(7αH)-germacra-1(10),5-dièn-8β-ol (**70**), 4-méthylène-(7αH)-germacra-1(10),5-dièn-8α-ol (**71**) et cadina-1(10),4-dièn-8β-ol (**75**). Les composés **51**, **70** et **71** sont de nouvelles molécules, tandis que les données RMN du composé **75** sont rapportées pour la première fois. Un total de 76 constituants représentant 95,2 à 98,9% de la composition chimique ont été identifiés. Les composés majoritaires sont le germacrène D (15,6-23,6%), suivi du 4-méthylène-(7αH)-germacra-1(10),5-dièn-8β-ol (5,8-9,8%), du (Z)-β-ocimène (3,4-8,8%), du germacrène D-8-one (6,8-8,4%), du (10βH)-1β,8β-oxido-cadin-4-ène (5,5-8,3%), du cadina-1(10),4-dièn-8β-ol (5,5-7,6%), du (E)-β-caryophyllène (5,3-7,0%) et du (E)-β-ocimène (4,1-6,4%). L'huile essentielle de feuilles de *Isolona dewevrei* présente une composition chimique originale, impliquant diverses nouvelles molécules. Des tests biologiques sont en cours d'évaluation sur l'huile essentielle et les nouvelles molécules isolées pour déterminer leurs possibles utilisations thérapeutiques.

Mots clés : *Isolona dewevrei* ; huile essentielle de feuilles ; nouveaux composés naturels ; Côte d'Ivoire.

New natural compounds isolated from the leaf essential oil of *Isolona dewevrei* (Annonaceae) from Côte d'Ivoire

Abstract : This study is part of the continuation of the chemical characterization of aromatic and medicinal plants from Côte d'Ivoire. It aims at the structural determination of several unidentified compounds in five samples of the leaf essential oil from *Isolona dewevrei*. Repetitive silica gel column chromatographies of the essential oil, followed by analysis of the fractions by GC-RI, GC-SM and ¹³C NMR, led to the isolation of four compounds. Their structures were elucidated by 1D, 2D NMR and GC-QTOF-MS: (10βH)-1β,8β-oxido-cadin-4-ene (**51**), 4-methylene-(7αH)-germacra-1(10),5-dien-8β-ol (**70**), 4-methylene-(7αH)-germacra-1(10),5-dien-8α-ol (**71**) and cadina-1(10),4-dien-8β-ol (**75**). Compounds **51**, **70** and **71** are new molecules, while NMR data of compound **75** are reported for the first time. A total of 76 constituents representing 95.2 to 98.9% of the chemical composition were identified. The major compounds are germacrene D (15.6-23.6%), followed by 4-methylene-(7αH)-germacra-1(10),5-dien-8β-ol (5.8-9.8%), (Z)-β-ocimene (3.4-8.8%), germacrene D-8-one (6.8-8.4%), (10βH)-1β,8β-oxido-cadin-4-ene (5.5-8.3%), cadina-1(10),4-dien-8β-ol (5.5-7.6%), (E)-β-caryophyllene (5.3-7.0%) and (E)-β-ocimene (4.1-6.4%). The leaf essential oil of *Isolona dewevrei* has an original chemical composition, involving various new molecules. Biological activities are being evaluated on the essential oil and the isolated new molecules, to determine their possible therapeutic uses.

Keywords: *Isolona dewevrei*; leaf essential oil; new natural compounds; Côte d'Ivoire.

1. Introduction

Isolona dewevrei est un arbuste à feuilles persistantes pouvant atteindre 15 m de hauteur, appartenant au genre *Isolona*, qui se compose de 20 espèces largement répandues dans les forêts tropicales humides d'Afrique de l'Ouest, du Centre et de Madagascar. Cinq espèces de ce genre poussent à l'état sauvage en Côte d'Ivoire : *Isolona campanulata*, *Isolona cooperi*, *Isolona deightonii*, *Isolona soubreana* et *Isolona dewevrei*. En phytothérapie ivoirienne, *Isolona cooperi* et *Isolona campanulata* sont utilisées pour traiter les affections bronchiques, les maladies de la peau, l'hématurie, l'infertilité et pour faciliter l'accouchement [1,2].

Des études antérieures, réalisées sur *Isolona campanulata* et *Isolona cooperi*, ont conduit à l'isolement de divers alcaloïdes, stérols et sesquiterpènes [3-5]. Aussi, les principaux constituants des huiles de feuilles et

des écorces de tige de *Isolona cooperi* sont le (*Z*)- β -ocimène et le γ -terpinène, tandis que la composition de l'huile des écorces de racine est dominée par le 5-isopenténylindole et le (*E*)- β -caryophyllène [6]. L'huile essentielle de feuilles de *Isolona campanulata* est riche en sesquiterpènes et sa composition est dominée soit par l'eudesm-5- α -11-ol, soit par le (*E*)- β -caryophyllène et l' α -humulène [7]. Dans nos précédents travaux, nous avons étudié et rapporté pour la première fois les compositions chimiques des huiles essentielles de feuilles, de racines et des écorces de tige de *Isolona dewevrei*. De l'huile de feuilles, quatre nouveaux composés ont été isolés et caractérisés : 6,12-oxido-germacra-1(10),4,6,11(12)-tétraène, (5 α H,10 β Me)-6,12-oxido-éléma-1,3,6,11(12)-tétraène, germacra-1(10),4,7(11)-trièn-6,12- γ -lactone et (1 β H,5 β H)-6,12-oxido-guaia-6,10(14),11(12)-trièn-4 α -ol. Elle est dominée par le germacrène B, le germacrène D, le (5 α H,10 β Me)-6,12-oxido-éléma-1,3,6,11(12)-tétraène, le (*Z*)- β -ocimène, le γ -élémane et le (*E*)- β -caryophyllène [8]. La structure du germacrène D-8-one, un autre nouveau composé naturel, a également été élucidée après isolement de l'huile essentielle des écorces de tige de la plante. Les huiles de racines et des écorces de tige sont quant à elles, dominées par le cypérène [9].

Poursuivant la caractérisation chimique des huiles essentielles de plantes aromatiques et médicinales de Côte d'Ivoire [10–15], nous rapportons maintenant l'isolement et l'élucidation structurale de trois nouveaux sesquiterpènes oxygénés de l'huile essentielle de feuilles de *Isolona dewevrei*, ainsi que la description des données RMN d'un quatrième sesquiterpène.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal – Extraction et fractionnement de l'huile essentielle

Les échantillons de feuilles fraîches ont été collectés sur des pieds individuels de *Isolona dewevrei* dans la forêt de Bossématé (Coordonnées géographiques : 6°26'57.9" N et 3°28'47.5" O) en avril 2016. Le matériel végétal a été authentifié par des botanistes du Centre Suisse de Recherches Scientifiques (CSRS) et du Centre National de Floristique (CNF) Abidjan, Côte d'Ivoire. Un spécimen de référence a été déposé à l'herbier du CNF, Abidjan, avec la référence LAA 12874. Les échantillons d'huile essentielle (E1 à E5) ont été obtenus par entraînement à la vapeur d'eau à l'aide d'un appareil de type Clevenger. L'échantillon E2 (2,9 g) a été répétitivement fractionné par chromatographie sur colonne (CC) comme indiqué sur la Figure 1.

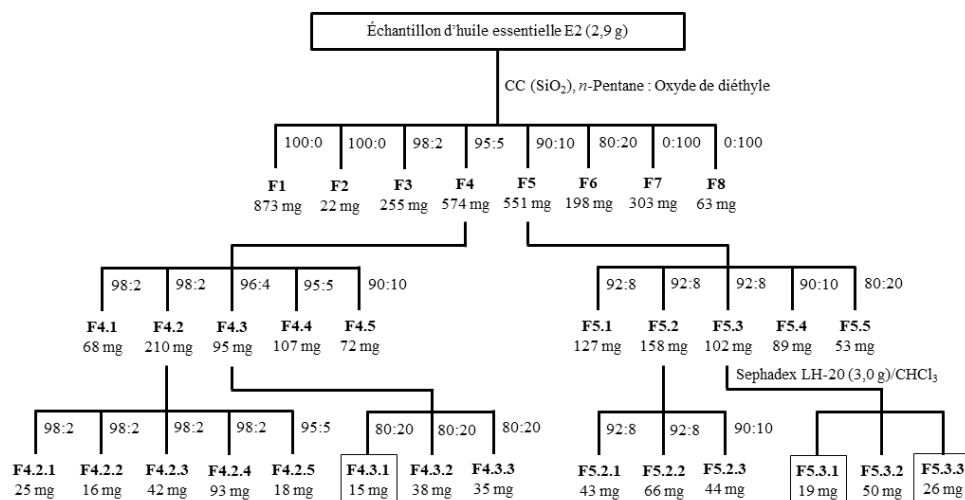


Figure 1 : Fractionnement de l'huile essentielle de feuilles de *Isolona dewevrei*

2.2. Analyses CPG-Ir, CPG-SM, CPG-QTOF-SM et RMN

Toutes les analyses et l'identification des constituants ont été réalisées avec le matériel technique et les méthodes décrites dans nos précédents travaux [10].

3. Résultats et discussion

Cinq échantillons d'huile essentielle de feuilles (E1 à E5) de *Isolona dewevrei* ont été extraits avec des rendements calculés sur une base pondérale (p/p) de 0,105 à 0,121%. Les échantillons ont été analysés par une combinaison de CPG-Ir, CPG-SM et RMN ¹³C, suivant une méthode informatisée développée à l'Université de Corse [16,17]. Bien que divers constituants soient identifiés par l'utilisation de ces trois techniques complémentaires, plusieurs autres, dont certains présentaient des proportions appréciables, sont restés non identifiés. Une attention particulière a été portée à quatre d'entre eux : composés **51** (Ira/Irp : 1534/1853 ; 5,5 à 8,3%), **70** et **71** qui coéluent sur les deux colonnes (Ira/Irp : 1657/2355 ; 7,7 à 12,4%) et **75** (Ira/Irp : 1676/2276 ; 5,5 à 7,6%). Par conséquent, l'échantillon d'huile essentielle de plus grande masse, E2 (2,9 g), a

été soumis à une série de chromatographies sur colonne (CC) afin de les isoler et élucider leurs structures par RMN 1D, 2D et CPG-QTOF-SM.

3.1. Élucidation structurale du composé **51**

Le composé **51** a été obtenu avec un haut degré de pureté (CPG : 98,7%) dans la sous-fraction F4.3.1 (15 mg). La masse exacte mesurée par CPG-QTOF-SM est de 220,1821 g/mol, correspondant à la formule empirique C₁₅H₂₄O. Les spectres RMN ¹H, RMN ¹³C et DEPT sont en accord avec la formule brute C₁₅H₂₄O, qui implique quatre degrés d'insaturation (Tableau 1). Ils indiquent en outre, la présence d'une double liaison tri-substituée (C4, 133,78 ppm et C5, 122,89 ppm) et de deux carbones oxydés (C, 86,26 ppm et CH, 81,09 ppm), liés à l'atome d'oxygène. Compte tenu des quatre degrés d'insaturation et de la présence d'une seule double liaison, le composé **51** a donc une structure de type tricyclique. Les spectres RMN mettent également en évidence : un groupe isopropyle (H11, 1,45 ppm, dsept : 9,3, 6,7 Hz ; H12, 0,94 ppm, d : 6,7 Hz et H13, 0,87 ppm, d : 6,7 Hz) ; un groupe méthyle (H15, 1,59 ppm, large s) lié à un carbone quaternaire sp² et un autre (H14, 1,07 ppm, d : 7,4 Hz) lié à une méthine sp³. Partant de la méthine lié à l'atome d'oxygène (CH, 81,75 ppm, 4,27 ppm, d : 5,2 Hz), les corrélations HMBC décrivent une sous-structure de type oxabicyclo[2.2.1]heptane (oxa-norbornane), portant le groupe isopropyle sur le carbone C7 et le groupe méthyle sur C10. Les corrélations observées sur le spectre COSY entre les protons H7 et H11 d'une part, puis entre H10 et H14 d'autre part, confirment la position des deux substituants sur le squelette oxa-norbornane. Les quatre derniers carbones constituent le troisième cycle, évidemment cyclohexénique. La corrélation observée en NOESY entre les protons H7 et H14 situe le groupe isopropyle en position *exo* par rapport à la sous-structure oxa-norbornane, tandis que le méthyle C14 est en position *endo*. De plus, la corrélation NOESY entre H6, H11 et H13 corrobore une jonction *cis* du squelette bicyclo[4.4.0]décane. La structure du composé **51** est donc élucidée en tant que le (10βH)-1β,8β-oxido-cadin-4-ène (Figure 2).

Tableau 1 : Données RMN du composé **51**

C	δ ¹³ C (ppm)	DEPT	δ ¹ H (ppm)	Multiplicité (J (Hz))	COSY ¹ H- ¹ H	HMBC H → C	NOESY ¹ H- ¹ H
1	86,63	C	-	-	-	-	-
2	30,71	CH ₂	a 2,15 b 2,29	m	2b, 3a, 3b	1, 3, 4, 6, 10	2b, 3a
3	30,13	CH ₂	a 2,00 b 2,17	m	2a, 2b, 3b	1, 2, 4, 5, 15	2a, 3b
4	133,78	C	-	-	-	-	-
5	122,89	CH	5,57	quint (1,5)	6	1, 4, 6, 7, 15	6, 13, 15
6	51,98	CH	2,25	m	5, 7	1, 2, 4, 5, 7, 10	5, 11, 13
7	54,01	CH	1,16	t (9,3)	6, 8, 11	5, 6, 8, 11, 12, 13	2b, 8, 9a, 14
8	81,75	CH	4,27	d (5,2)	7, 9a, 9b	6, 7, 9, 10, 11	7, 9a, 14
9	43,42	CH ₂	a 1,02 b 2,21	dd (11,0, 3,8) dd (11,0, 5,2)	8, 9b, 10 8, 9a, 10	7, 8, 10, 14 1, 7, 8, 10, 14	9b, 8, 7, 14 9a, 10
10	41,18	CH	2,02	m	14, 9a, 9b	1, 2, 6, 8, 9, 14	9b, 14
11	33,27	CH	1,45	dsept (9,3, 6,7)	7, 12, 13	6, 7, 8, 12, 13	6, 12, 13
12	21,81	CH ₃	0,94	d (6,7)	11	7, 11, 13	11, 13
13	19,82	CH ₃	0,87	d (6,7)	11	7, 11, 12	5, 6, 11, 12
14	19,71	CH ₃	1,07	d (7,4)	10	1, 9, 10	7, 8, 9a, 10
15	22,65	CH ₃	1,59	large s	-	3, 4, 5	3b, 5

a, b : deux protons non-équivalents portés par le même atome de carbone.

3.2. Élucidation structurale des composés **70** et **71**

La sous-fraction F5.3.3 (26 mg) présente un seul pic chromatographique représentant 99,4 % de la fraction. En revanche, le spectre RMN ¹³C exhibe deux séries de 15 signaux aisément différenciables par leurs intensités relatives. Le rapport calculé par la moyenne des intensités relatives des carbones protonés est de 7/3 (composés **70/71**). Ces composés, qui à l'évidence coéluent sur les deux colonnes de la CPG, sont difficilement séparables par les techniques chromatographiques à notre disposition. Ainsi, la technique dite d'extraction RMN a été utilisée pour leur élucidation structurale [18,19]. Cette technique consiste à attribuer d'abord les déplacements chimiques ¹H et ¹³C de chaque composé, puis à repérer les corrélations spécifiques à chaque isomère les autres spectres RMN 2D (COSY, HMBC et NOESY), pour la détermination de leurs structures respectives.

Le balayage du pic chromatographique donne des spectres de masse superposables et la masse exacte mesurée est de 220,1823 g/mol, correspondant à la formule brute C₁₅H₂₄O (masse calculée = 220,1822 g/mol). De plus, les deux séries de 15 déplacements chimiques ¹³C sont très similaires et les spectres RMN ¹³C et DEPT corroborent la formule brute C₁₅H₂₄O, qui implique quatre degrés d'insaturation (Tableau 2). Ces composés ayant six carbones sp² chacun, ils sont manifestement monocycliques. Les différentes observations suggèrent la présence de deux épimères. Les spectres RMN de l'épimère majoritaire (**70**), mettent en évidence un groupe isopropyle : H11 (1,69 ppm, m), H12 (0,97 ppm, d : 6,7 Hz) et H13 (0,87 ppm, d : 6,7 Hz) ; un

méthyle lié à un carbone quaternaire sp^2 (H14, 1,71 ppm, large s) et un méthylène exocyclique (H15, 4,78 et 4,82, large d : 2,3 Hz). De plus, une méthine déblindée (C8, 69,57 ppm) suggère la présence d'un hydroxyle. Le spectre HMBC confirme ces suggestions, par les corrélations entre les protons du groupe isopropyle et le carbone C7 qui le porte. Aussi, la multiplicité des signaux des protons vinyliques H5 (5,79 ppm, d, 16,1 Hz) et H6 (5,56 ppm, dd, 16,1, 9,8 Hz) indique une double liaison CH=CH. D'après les corrélations observées sur le spectre HMBC, cette double liaison se situe entre le carbone C7 et le carbone quaternaire C4 (148,76 ppm) de la double liaison exocyclique C=CH₂. Le spectre COSY confirme également ces observations à travers deux groupes de protons formés par les séquences H1-H2-H3 et H5-H6-H7-H8-H9. Les corrélations HMBC des protons H1, H3 et H9 ont conduit à la structure du composé **70** : 4-méthylène-germacra-1(10),5-dièn-8-ol.

La stéréochimie (*E*) des doubles liaisons intracycliques est démontrée par la valeur de la constante de couplage (16,1 Hz) pour la liaison C5=C6 et par l'observation sur le spectre NOESY, d'une tache de corrélation entre H1 et H9 pour la liaison C1=C10. La stéréochimie relative des groupes isopropyle et hydroxyle est déterminée par (i) les valeurs des constantes de couplage des signaux des protons géminés ; (ii) les corrélations spatiales NOE observées entre différents protons. En effet, H6 apparaît comme un dd ($J_{H5-H6} = 16,1$ Hz, et $J_{H6-H7} = 9,8$ Hz,) et le signal de H7 est un dt ($J_{H6-H7} = 9,8$ Hz, $J_{H7-H11} = 2,5$ Hz et $J_{H7-H8} = 2,5$ Hz). En supposant que le groupe isopropyle adopte une position équatoriale, H7 est axial et la valeur de la constante de couplage $J_{H7-H8} = 2,5$ Hz situe H8 en position équatoriale. Par conséquent, H7 et H8 présentent une stéréochimie *cis* ainsi que les groupes isopropyle et hydroxyle. D'où le composé **70** est le *cis*-germacrène D-8-ol. Ce point est corroboré par l'observation en NOESY d'une corrélation entre H7 et H8, confirmant que les deux protons sont du même côté du plan de la molécule. La structure du composé **70** est finalement élucidée en tant que le 4-méthylène-(7 α H)-germacra-1(10)*E*,5*E*-dièn-8 β -ol (Figure 2). De même, toutes les corrélations observées sur les spectres HMBC et COSY pour l'épimère minoritaire **71**, conduisent à la même structure de germacrène D-8-ol. La présence d'une corrélation entre H8 et H11 et l'absence de corrélation entre H7 et H8, qui sont situés dans une conformation *trans* antipériplanare, associée au déblindage (3,5 ppm) de C8 dans le composé **71** par rapport à **70** est en accord avec la stéréochimie axiale/équatoriale du groupe hydroxyle (comparé avec du menthol/néo-menthol, par exemple). Le composé **71** est donc le 4-méthylène-(7 α H)-germacra-1(10) *E*,5*E*-dièn-8 α -ol (Figure 2).

3.3. Élucidation structurale du composé **75**

Le composé **75** a été isolé dans la sous-fraction F5.3.1 (19 mg) avec une teneur de 98,3 %. Son spectre de masse (IE) présente un pic $m/z = 220$ (M^{•+}) et un pic $m/z = 202$ (M^{•+}-18), caractéristiques d'un alcool. La masse exacte mesurée est de 220,1823 g/mol, correspondant à la formule C₁₅H₂₄O (masse calculée = 220,1822 g/mol). Les spectres RMN ¹H, ¹³C et DEPT sont en accord avec cette formule, qui implique quatre degrés d'insaturation. Ces spectres confirment également la présence d'une fonction alcool (C8, 65,54 ppm) (Tableau 3). Quatre signaux de carbones sp^2 indiquent que ce composé a une structure de type bicyclique. Le spectre RMN ¹H met en évidence un groupe isopropyle : H11 (1,45 ppm, dsept : 9,3, 6,7 Hz), H12 (0,94 ppm, d : 6,7 Hz) et H13 (0,87 ppm, d : 6,7 Hz) ; confirmé par le spectre COSY. Les corrélations COSY conduisent à deux autres groupes de protons formés par les séquences H2-H3 et H5-H6-H7-H8-H9 et indiquent une liaison entre le groupe isopropyle et le carbone C7. Sur le spectre HMBC, le proton H8, géminé à la fonction hydroxyle, corréle avec les carbones C6, C7, C9 et le carbone quaternaire éthylénique C10. Le proton H6, situé à la jonction cyclique, est en corrélation avec les carbones C1, C2 et C10 d'une part et avec C4, C5 et C7 d'autre part. Aussi, les protons H14 et H15 corrélent avec les carbones quaternaires sp^2 C10 et C4 confirmant que les méthyles C14 et C15 sont liés à C10 et C4, respectivement. La structure du composé **75** ainsi décrite est celle du cadina-1(10),4-dièn-8-ol. La stéréochimie relative des substituants est établie par les corrélations spatiales NOESY. Les protons H6, H11, H12 et H13 corrélent ensemble, d'où une stéréochimie *cis* de H6 et du groupe isopropyle. De même, H7 est en corrélation avec H8, conduisant à la stéréochimie *cis* du groupe isopropyle et de la fonction hydroxyle. Par conséquent, le composé **75** est le cadina-1(10),4-dièn-8 β -ol (Figure 2). Ce composé est un épimère du cadina-1(10),4-dièn-8 α -ol isolé de l'huile essentielle de *Pulicaria gnaphalodes* [20]. À notre connaissance, les données RMN du cadina-1(10),4-dièn-8 β -ol n'ont pas été décrites dans la littérature. Par conséquent, la présente étude est la toute première élucidation structurale de ce composé.

Tableau 2 : Données RMN des composés 70 et 71

Composé 70								Composé 71			
C	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	DEPT	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	Multiplicité (J (Hz))	COSY $^1\text{H}-^1\text{H}$	HMBC $\text{H} \rightarrow \text{C}$	NOESY $^1\text{H}-^1\text{H}$	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	Multiplicité (J (Hz))	NOESY $^1\text{H}-^1\text{H}$
1	132,27	CH	5,14	large dd (10,7, 4,8)	2a, 2b	2, 9, 10, 14	2b, 6, 9b	130,27	5,63	large dd (10,6, 5,0)	2b, 6, 9b
2	29,36	CH ₂	a 1,99	m	1, 2b, 3a, 3b	1, 3, 4, 5, 10, 15	3b, 14	30,58	a 2,16	m	3b, 14
			b 2,46	m	1, 2a, 3a, 3b	1, 3, 4, 5, 10, 15	1, 3a, 15b		b 2,19	m	1, 3a, 15b
3	34,61	CH ₂	a 2,13	m	1, 2a, 2b	1, 2, 4, 5, 15	2b, 6, 15b	32,26	a 2,22	m	2b, 6, 15b
			b 2,48	m	1, 2a, 2b	1, 2, 4, 5, 15	2a, 5, 8, 14		b 2,46	m	2a, 5, 14
4	148,76	C	-	-	-	-	-	148,79	-	-	-
5	137,36	CH	5,79	d (16,1)	6	3, 4, 6, 7, 15	3b, 7, 8, 14	127,64	6,06	d (16,3)	3b, 7, 14
6	130,18	CH	5,56	dd (16,1, 9,8)	5, 7	4, 5, 7, 8, 11	1, 2b, 9b, 11, 13	134,81	5,93	dd (16,3, 9,8)	1, 2b, 9b, 11, 13
7	57,56	CH	1,93	dt (9,8, 2,5)	6, 8, 11	5, 6, 8, 11, 12, 13	5, 8, 12, 13, 14	53,96	2,12	m	5, 12, 13, 14
8	69,57	CH	4,12	m	7, 9a, 9b	6, 7, 9, 10, 11	3b, 5, 7, 14	73,13	4,09	m	9a, 13
			a 2,39	dd (14,0, 2,3)	8	1, 7, 8, 10, 14	9b, 14		a 2,02	dd (14,2, 4,0)	8, 9b, 14
9	47,28	CH ₂	b 2,56	dd (14,0, 5,3)	8	1, 7, 8, 10, 14	1, 6, 9a, 11	45,68	b 2,70	dd (14,2, 6,8)	1, 6, 9a, 11
			-	-	-	-	-		-	-	-
10	132,55	C	-	-	-	-	-	134,16	-	-	-
11	28,47	CH	1,69	m	7, 12, 13	6, 7, 8, 12, 13	6, 9b, 12, 13	27,44	1,97	m	6, 9b, 12, 13
12	20,52	CH ₃	0,97	d (6,7)	11	7, 11, 13	7, 11, 13	20,64	0,99	d (6,8)	7, 11, 13
13	21,58	CH ₃	0,87	d (6,7)	11	7, 11, 12	6, 7, 11, 12	21,86	0,94	d (6,8)	6, 8, 11, 12
14	19,34	CH ₃	1,71	large s	-	1, 2, 8, 9, 10	2a, 3b, 5, 7, 8, 9a	19,53	1,44	large s	2a, 3b, 5, 7, 9a
			4,78	large d (2,3)	15b	2, 3, 4, 5	3b, 5, 15b		4,71	large d (2,2)	3b, 5, 15b
15	109,34	CH ₂	4,82	large d (2,3)	15a	2,3,4,5	2b, 3a, 15a	112,25	4,88	large d (2,2)	2b, 3a, 15a
			-	-	-	-	-		-	-	-

a, b : deux protons non-équivalents portés par le même atome de carbone.

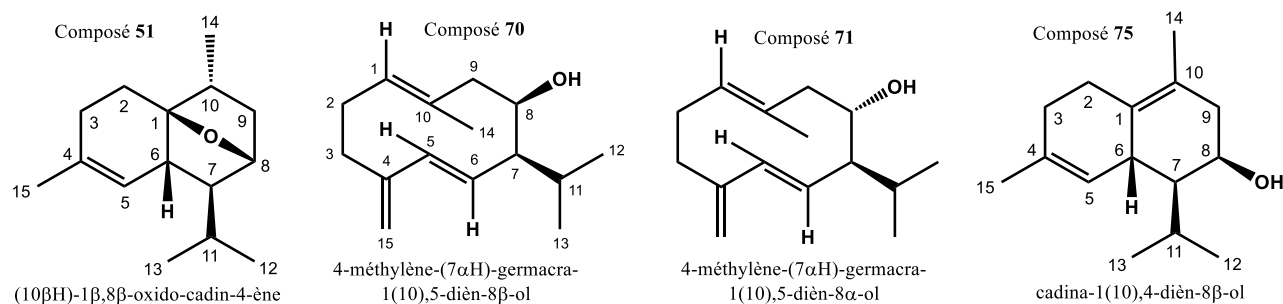
**Figure 2 : Structure des composés 51, 70, 71 et 75**

Tableau 3 : Données RMN du composé 75

C	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	DEPT	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	Multiplicité (J (Hz))	COSY $^1\text{H}-^1\text{H}$	HMBC H \rightarrow C	NOESY $^1\text{H}-^1\text{H}$
1	130,31	C	-	-	-	-	-
2	26,70	CH ₂	a 1,99 b 2,74	m ddd (12,2, 3,6, 3,1)	2b, 3 2a, 3	1, 3, 4, 6, 10 1, 3, 4, 6, 10	2b, 3 2a, 3, 14
3	32,05	CH ₂	a 2,04	m	2a, 2b	1, 2, 4, 5, 15	2a, 2b, 15
4	134,83	C	-	-	-	-	-
5	123,99	CH	5,45	m (1,5)	6	1, 4, 6, 7, 15	6, 15
6	34,93	CH	2,86	large d (11,0)	5, 7	1, 2, 4, 5, 7, 10	5, 9b, 11, 13
7	48,03	CH	1,15	large dd (11,0, 4,3)	6, 8, 11	5, 6, 8, 11, 12, 13	8, 9a, 14
8	65,54	CH	4,17	m	7, 9a, 9b	6, 7, 9, 10, 11	7, 9a, 14
9	41,81	CH ₂	a 2,04 b 2,30	m dd (17,3, 4,1)	8, 9b 8, 9a	1, 7, 8, 10, 14 1, 7, 8, 10, 14	9b, 8, 7, 14 9a, 6, 11, 12
10	119,79	C	-	-	-	-	-
11	27,14	CH	2,10	dsept (7,0, 4,1)	7, 12, 13	6, 7, 8, 12, 13	6, 12, 13
12	18,50	CH ₃	1,04	d (7,0)	11	7, 11, 13	9b, 11, 13
13	21,79	CH ₃	1,05	d (7,0)	11	7, 11, 12	6, 11, 12
14	18,74	CH ₃	1,67	large s	-	1, 9, 10	2b, 8, 7
15	23,62	CH ₃	1,69	large s	-	3, 4, 5	3, 5

a, b : deux protons non-équivalents portés par le même atome de carbone.

3.4. Composition chimique de l'huile essentielle de feuilles de *Isolona dewevrei*

La composition chimique de l'huile essentielle de feuilles de *Isolona dewevrei* a été déterminée par une combinaison de chromatographie répétitive sur colonne (CC), CPG-Ir, CPG-SM et RMN ¹³C. Au total, 76 constituants représentant 95,2 à 98,9% de la composition chimique, ont été identifiés. Les composés **51**, **70** et **71** sont de nouvelles molécules, tandis que les données RMN du composé **75** sont décrites pour la première fois. L'huile essentielle de feuilles de cette plante est largement dominée par les sesquiterpènes oxygénés (32,6 à 46,5%) et les sesquiterpènes hydrocarbonés (37,8 à 44,7%), la fraction sesquiterpène représentant 74,2 à 85,2% (Tableau 4). Les cinq échantillons d'huile essentielle présentent des compositions chimiques proches, toutes dominées par le germacrène D (15,6 à 23,6%), suivi du (7 α H)-germacrène D-8 β -ol (**70**) (5,8 à 9,8%), du germacrène D-8-one (6,8 à 8,4%), du (Z)- β -ocimène (3,4 à 8,4%), du (10 β H)-1 β ,8 β -oxido-cadin-4-ène (**51**) (5,5 à 8,3%), du cadina-1(10),4-dièn-8 β -ol (**75**) (5,5 à 7,6%), du (E)- β -caryophyllène (5,3 à 7,0%) et du (E)- β -ocimène (4,1 à 6,4%). La composition chimique déterminée dans ce travail, diffère de celle de la précédente étude, dominée par le germacrène B (20,8 et 24,8%), le germacrène D (7,5 et 17,8%), le (5 α H,10 β Me)-6,12-oxido-éléma-1,3,6,11(12)-tétraène (10,3 et 0,3%), le (Z)- β -ocimène (7,8 et 9,7%), le γ -élémente (6,9 et 7,5%) et le (E)- β -caryophyllène (6,8 et 3,5%) [8].

Tableau 4 : Composition chimique de l'huile essentielle de feuilles de *Isolona dewevrei*

N°	Composés	Ira	Irp	E1	E2	E3	E4	E5	Identification
1	α -Thujène	923	1016	0,1	0,2	tr	0,4	0,1	Ir, SM, RMN ¹³ C
2	α -Pinène	931	1013	0,1	0,3	0,1	0,2	0,1	Ir, SM, RMN ¹³ C
3	Sabinène	965	1120	0,4	0,6	0,1	1,6	0,4	Ir, SM, RMN ¹³ C
4	β -Pinène	970	1109	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	Ir, SM, RMN ¹³ C
5	Myrcène	981	1158	0,3	0,4	0,3	0,5	0,3	Ir, SM, RMN ¹³ C
6	α -Phellandrène	997	1162	-	0,1	0,2	0,1	tr	Ir, SM
7	δ -3-Carène	1 005	1146	0,1	tr	-	0,2	0,1	Ir, SM
8	α -Terpinène	1 009	1178	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	Ir, SM
9	<i>p</i> -Cymène	1 012	1268	0,1	0,2	tr	0,1	0,1	Ir, SM, RMN ¹³ C
10	Limonène	1 021	1199	1,1	1,2	1,1	1,2	1,2	Ir, SM, RMN ¹³ C
11	(Z)- β -Ocimène	1 025	1230	4,5	5,9	3,4	8,8	4,3	Ir, SM, RMN ¹³ C
12	(E)- β -Ocimène	1 036	1247	4,2	4,4	4,5	6,4	4,1	Ir, SM, RMN ¹³ C
13	γ -Terpinène	1 048	1242	0,2	0,2	0,2	0,4	0,2	Ir, SM, RMN ¹³ C
14	Terpinolène	1 078	1279	0,1	tr	0,2	0,1	0,1	Ir, SM
15	Linalol	1 083	1543	0,1	0,1	tr	0,1	0,1	Ir, SM
16	<i>allo</i> -Ocimène	1 117	1370	0,1	0,2	0,1	0,3	0,1	Ir, SM, RMN ¹³ C
17	Terpinèn-4-ol	1 161	1597	0,1	0,1	0,5	0,1	0,5	Ir, SM, RMN ¹³ C
18	α -Terpinéol	1 171	1693	0,1	0,1	0,3	tr	0,1	Ir, SM
19	Géraniol	1 233	1843	0,2	0,1	0,1	0,1	tr	Ir, SM

20	Géranial	1 244	1740	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	Ir, SM, RMN ¹³ C
21	Thymol	1 267	2178	0,1	tr	0,1	tr	tr	Ir, SM
22	Bicycloélémane	1 331	1485	tr	0,1	0,6	0,1	tr	Ir, SM, RMN ¹³ C
23	δ-Elémène	1 334	1464	0,5	1,0	tr	0,9	0,6	Ir, SM, RMN ¹³ C
24	α-Cubébène	1 347	1452	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	Ir, SM
25	α-Ylangène	1 368	1475	-	0,1	0,1	tr	0,2	Ir, SM
26	α-Copaène	1 374	1485	0,7	0,7	0,9	0,8	0,7	Ir, SM, RMN ¹³ C
27	β-Elémène	1 385	1583	1,7	1,8	1,6	1,8	1,7	Ir, SM, RMN ¹³ C
28	α-Gurjunène	1 398	1529	tr	0,2	0,5	tr	0,1	Ir, SM, RMN ¹³ C
29	Cypérène	1 404	1524	0,6	0,1	0,7	0,1	tr	Ir, SM, RMN ¹³ C
30	(E)-β-Caryophyllène*	1 416	1589	5,7	5,3	7,0	5,8	5,7	Ir, SM, RMN ¹³ C
31	α-Santalène*	1 416	1565	0,1	0,2	0,1	0,1	0,7	Ir, SM, RMN ¹³ C
32	γ-Elémène#	1 426	1 630	0,5	1,1	tr	0,6	0,6	Ir, SM, RMN ¹³ C
33	épi-β-Santalène	1 441	1 626	0,6	tr	0,2	-	0,3	Ir, SM, RMN ¹³ C
34	(E)-β-Farnésène	1 446	1 660	0,1	0,3	0,5	0,1	0,1	Ir, SM, RMN ¹³ C
35	α-Humulène	1 448	1 662	1,3	1,4	1,3	1,2	1,4	Ir, SM, RMN ¹³ C
36	β-Santalène	1 453	1 643	tr	0,2	tr	0,1	0,3	Ir, SM, RMN ¹³ C
37	γ-Muuroène	1 471	1 683	0,3	0,3	0,4	0,3	0,5	Ir, SM, RMN ¹³ C
38	Germacrène D	1 474	1 700	20,5	15,6	23,6	21,7	21,3	Ir, SM, RMN ¹³ C
39	trans-β-Bergamotène	1 478	1 676	0,1	0,4	tr	tr	0,1	Ir, SM, RMN ¹³ C
40	β-Sélinène	1 484	1 710	tr	0,1	0,6	0,1	0,5	Ir, SM, RMN ¹³ C
41	α-Sélinène	1 490	1 723	0,2	0,1	tr	-	0,3	Ir, SM
42	Bicyclgermacrène	1 491	1 721	1,6	1,5	1,8	1,5	1,6	Ir, SM, RMN ¹³ C
43	γ-Cadinène	1 493	1 753	0,2	0,3	0,2	0,3	0,3	Ir, SM, RMN ¹³ C
44	β-Bisabolène	1 500	1 719	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	Ir, SM, RMN ¹³ C
45	(E,E)-α-Farnésène	1 501	1 748	tr	0,2	-	0,1	0,3	Ir, SM, RMN ¹³ C
46	δ-Cadinène	1 514	1 753	2,4	1,0	2,5	2,0	2,3	Ir, SM, RMN ¹³ C
47	cis-Lancéol	1 517	2 087	0,7	tr	0,9	0,7	0,8	Ir, SM, RMN ¹³ C
48	Cadina-1,4-diène	1 519	1 762	tr	1,4	-	0,1	0,2	Ir, SM, RMN ¹³ C
49	(Z)-γ-Bisabolène	1 521	1 721	1,5	0,1	1,4	1,2	1,4	Ir, SM, RMN ¹³ C
50	trans- Hydrate de sesquisabinène	1 530	1 984	0,1	0,3	tr	0,1	0,4	Ir, SM, RMN ¹³ C
51	(10βH)-1β,8β-Oxido-cadin-4-ène	1 534	1 853	6,7	8,3	6,1	5,5	6,6	RMN ID, 2D
52	β-Elémol	1 536	2 077	0,1	0,2	tr	0,1	0,5	Ir, SM, RMN ¹³ C
53	(E)-Nérolidol	1 547	2 034	1,1	1,0	0,5	-	0,1	Ir, SM, RMN ¹³ C
54	Germacrène B#	1 549	1 818	2,4	4,0	0,4	2,4	2,4	Ir, SM, RMN ¹³ C
55	cis-Hydrate de sesquisabinène	1 562	2 079	0,2	0,2	0,3	0,2	0,3	Ir, SM, RMN ¹³ C
56	Germacrène-1(10),5-diène-8β-ol	1 564	2 047	0,2	tr	0,6	-	0,2	Ir, SM, RMN ¹³ C
57	Oxyde de caryophyllène	1 567	1 973	0,2	0,3	0,1	0,1	0,3	Ir, SM, RMN ¹³ C
58	Guaiol	1 581	2 119	0,2	tr	0,5	0,1	tr	Ir, SM, RMN ¹³ C
59	Germacrène-D-8-one	1 584	2 066	8,2	8,1	7,6	6,8	8,4	Ir, SM, RMN ¹³ C
60	Humulène oxyde II	1 597	2 042	0,2	0,2	0,4	0,3	0,4	Ir, SM, RMN ¹³ C
61	Alismol	1 609	2 245	tr	0,3	0,1	0,1	tr	Ir, SM, RMN ¹³ C
62	Erémoligénol	1 614	2 196	0,1	0,2	-	0,2	0,5	Ir, SM, RMN ¹³ C
63	γ-Eudesmol	1 620	2 172	1,2	1,2	1,2	1,0	1,2	Ir, SM, RMN ¹³ C
64	δ-Cadinol	1 626	2 174	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	Ir, SM
65	Muurole-4,10(14)-diène-8β-ol	1 629	2 186	2,9	2,5	3,2	2,3	2,8	Ir, SM, RMN ¹³ C
66	β-Eudesmol	1 635	2 225	-	0,2	0,3	tr	0,2	Ir, SM, RMN ¹³ C
67	α-Cadinol	1 637	2 231	0,6	0,6	0,6	0,5	0,6	Ir, SM, RMN ¹³ C
68	α-Eudesmol	1 639	2 216	0,1	0,2	tr	0,1	-	Ir, SM, RMN ¹³ C
69	β-Bisabolol	1 653	2 144	0,2	0,2	0,2	tr	0,2	Ir, SM, RMN ¹³ C
70	(7αH)-Germacrène D-8β-ol*	1 657	2 355	7,4	9,8	6,1	5,8	6,1	RMN ID, 2D
71	(7αH)-Germacrène D-8α-ol*	1 657	2 355	2,7	2,6	2,3	1,9	2,6	RMN ID, 2D
72	α-Bisabolol	1 664	2 234	1,5	1,1	1,4	0,8	1,2	Ir, SM, RMN ¹³ C
73	épi-α-Bisabolol	1 667	2 208	tr	0,2	0,1	0,1	0,1	Ir, SM, RMN ¹³ C
74	Cadina-1(10),4-diène-8α-ol	1 672	2 306	0,1	0,3	0,1	-	0,1	Ir, SM, RMN ¹³ C
75	Cadina-1(10),4-diène-8β-ol	1 676	2 276	7,2	7,6	6,2	5,5	6,9	RMN ID, 2D
76	Cadina-4,10(14)-diène-8β-ol	1 678	2 280	0,8	0,8	0,8	0,3	0,7	Ir, SM, RMN ¹³ C
Monoterpènes hydrocarbonés				11,6	14,0	10,4	20,6	11,4	
Monoterpènes oxygénés				0,7	0,6	1,1	0,5	0,8	
Sesquiterpènes hydrocarbonés				41,3	37,8	44,7	41,6	43,9	
Sesquiterpènes oxygénés				42,8	46,5	39,7	32,6	41,3	
Total identifié				96,4	98,9	95,9	95,2	97,4	

Ordre d'éluion et pourcentages donnés sur colonne apolaire (BP-1), exceptés les composés dont les noms sont suivis d'un astérisque (*) pour lesquels les pourcentages sont donnés sur colonne polaire (BP-20) ; (#) composés thermolabiles dont les pourcentages sont déterminés par la combinaison de la CPG et de la

RMN ¹³C ; Ir : indices de rétention sur colonnes apolaire (Ira) et polaire (Irp) ; tr = traces (<0,05%) ; RMN ¹³C : composés identifiés par RMN ¹³C directement dans les échantillons ; RMN ¹³C : composés identifiés par RMN ¹³C dans une fraction de chromatographie

4. Conclusion

L'huile essentielle de feuilles de *Isolona dewevrei* de Côte d'Ivoire a été investiguée par la combinaison de techniques chromatographiques (CC, CPG-Ir) et spectroscopiques (CPG-SM, RMN ¹³C). Soixante-seize constituants représentant 95,2 à 98,9% de la composition chimique totale, ont été identifiés. Les feuilles de *Isolona dewevrei* produisent une huile essentielle riche en sesquiterpènes avec une composition chimique assez originale, présentant divers composés qui sont signalés pour la première fois. Cette huile est dominée par le germacrène D (15,6 à 23,6%), suivi du (7 α H)-germacrène D-8 β -ol (**70**) (5,8 à 9,8%), du germacrène D-8-one (6,8 à 8,4%), du (Z)- β -ocimène (3,4 à 8,4%), du (10 β H)-1 β ,8 β -oxido-cadin-4-ène (**51**) (5,5 à 8,3%), du cadina-1(10),4-dièn-8 β -ol (**75**) (5,5 à 7,6%), du (E)- β -caryophyllène (5,3 à 7,0%) et du (E)- β -ocimène (4,1 à 6,4%). Les composés **51**, **70** ainsi que le (7 α H)-germacrène D-8 α -ol (**71**), sont de nouveaux sesquiterpènes naturels, et les données RMN du cadina-1(10),4-dièn-8 β -ol (**75**) sont rapportées pour la première fois. Des tests biologiques sont en cours d'évaluation sur l'huile essentielle et les nouvelles molécules isolées pour déterminer leurs possibles utilisations thérapeutiques.

5. Remerciements

Les auteurs remercient chaleureusement le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique de Côte d'Ivoire pour avoir accordé une bourse de recherche à D. A. Kambiré, Messieurs J. Assi et H. Téré pour l'identification de la plante, puis Monsieur H. Brevard et Madame N. Barat (Robertet S.A.) pour leur assistance technique lors de l'analyse HRSM-IE.

6. Bibliographie

- [1] Couvreur, T.L.P. Revealing the Secrets of African Annonaceae: Systematics, Evolution and Biogeography of the Syncarpous Genera *Isolona* and *Monodora*. PhD Thesis, Wageningen University, Wageningen, The Netherlands, **2008**, p. 294.
- [2] Aké, A.L. Flore de Côte d'Ivoire: Étude descriptive et biogéographique avec quelques notes ethno-botaniques. Thèse de Doctorat ès-Sciences Naturelles, Université d'Abidjan, Abidjan, Côte d'Ivoire, **1984**, p. 1206.
- [3] Hocquemiller, R.; Cabalion, P.; Bruneton, J.; Cavé, A. Alcaloïdes des Annonacées XXIII. Alcaloïdes des écorces d'*Isolona campanulata* Engler et Diels. *Plantes Médicinales Phytothérapie* **1978**, *12*, 230–234.
- [4] Okpekon, A.T. Étude chimique et biologique de plantes ivoiriennes utilisées en médecine traditionnelle en tant qu'antiparasitaires: *Afromomum sceptrum* K. Schum. (Zingiberaceae), *Bridelia ferruginea* Benth. (Euphorbiaceae), *Isolona cooperi* Hutch. & Dalz. et *Uvaria afzelii* Sc. Elliot (Annonaceae). Thèse de doctorat, Université Paris-Sud, France–Université de Cocody-Abidjan, Côte d'Ivoire, Paris, France, **2006**, p. 283.
- [5] Kabran, A.F. Étude phytochimique de plantes ivoiriennes à activité antiparasitaire. Thèse de doctorat, Université Paris-Sud, France–Université de Cocody-Abidjan, Côte d'Ivoire, Paris, France, **2013**, p. 290.
- [6] Boti, J.B.; Koukoua, G.; N'Guessan, Y.T.; Muselli, A.; Bernardini, A.F.; Casanova, J. Composition of the leaf, stem bark and root bark oils of *Isolona cooperi* investigated by GC (retention index), GC-MS and ¹³C-NMR spectroscopy. *Phytochem. Anal.* **2005**, *16*, 357–363.
- [7] Boti, J.B.; Yao, A.P.; Koukoua, G.; N'Guessan, Y.T.; Casanova, J. Components and chemical variability of *Isolona campanulata* Engler & Diels leaf oil. *Flavour Fragr. J.* **2006**, *21*, 166–170.
- [8] Kambiré, D.A.; Boti, J.B.; Ouattara, Z.A.; Yapi, A.T.; Bighelli, A.; Tomi, F.; Casanova, J. Leaf essential oil from Ivoirian *Isolona dewevrei* (Annonaceae): Chemical composition and structure elucidation of four new natural sesquiterpenes. *Flavour Fragr. J.* **2021**, *36*, 22–33.
- [9] Kambiré, D.A.; Boti, J.B.; Ouattara, Z.A.; Yapi, A.T.; Nelly, B.; Bighelli, A.; Tomi, F. Chemical composition of root and stem bark essential oils from Ivoirian *Isolona dewevrei*: Structural elucidation of a new natural germacrone. *Nat. Prod. Res.* **2021**, *36*, 2105–2111.
- [10] Kambiré, D.A.; Boti, J.B.; Yapi, T.A.; Ouattara, Z.A.; Bighelli, A.; Casanova, J.; Tomi, F. New Natural Oxygenated Sesquiterpenes and Chemical Composition of Leaf Essential Oil from Ivoirian *Isolona dewevrei* (De Wild. & T. Durand) Engl. & Diels. *Molecules* **2020**, *25*, 5613–5626.
- [11] Nea, F.; Kambiré, D.A.; Genva, M.; Tanoh, E.A.; Wognin, E.L.; Martin, H.; Brostaux, Y.; Tomi, F.; Lognay, G.C.; Tonzibo, Z.F.; et al. Composition, Seasonal Variation, and Biological Activities of *Lantana camara* Essential Oils from Côte d'Ivoire. *Molecules* **2020**, *25*, 2400–2422.
- [12] Kambiré, D.A.; Boti, J.B.; Yapi, A.T.; Ouattara, Z.A.; Paoli, M.; Bighelli, A.; Tomi, F.; Casanova, J. Composition and intraspecific chemical variability of leaf essential oil of *Laggera pterodonta* (DC.) Sch. Bip. ex Oliv. from Côte d'Ivoire. *Chem. Biodivers.* **2020**, *17*, e1900504.
- [13] Kambiré, D.A.; Yapi, A.T.; Boti, J.B.; Ouattara, Z.A.; Tonzibo, Z.F.; Filippi, J.J.; Bighelli, A.; Tomi, F. Two new eudesman-4 α -ol epoxides from the stem essential oil of *Laggera pterodonta* from Côte d'Ivoire. *Nat. Prod. Res.* **2020**, *34*, 2765–2771.

- [14] Kambiré, D.A.; Boti, J.B.; Filippi, J.J.; Tonzibo, Z.F.; Tomi, F. Characterization of a new epoxy-hydroxycarvotanacetone derivative from the leaf essential oil of *Laggera pterodonta* from Côte d'Ivoire. *Nat. Prod. Res.* **2019**, *33*, 2109–2112.
- [15] Kambiré, D.A.; Yapi, A.T.; Boti, J.B.; Garcia, G.; Tomi, P.; Bighelli, A.; Tomi, F. Chemical composition of leaf essential oil of *Piper umbellatum* and aerial part essential oil of *Piper guineense* from Côte d'Ivoire. *Nat. Prod. Commun.* **2019**, *14*, 1–8.
- [16] Tomi, F.; Bradesi, P.; Bighelli, A.; Casanova, J. Computer-aided identification of individual components of essential oils using carbon-13 NMR spectroscopy. *J. Magn. Reson. Anal.* **1995**, *1*, 25–34.
- [17] Ouattara, Z.A.; Boti, J.B.; Ahibo, A.C.; Sutour, S.; Casanova, J.; Tomi, F.; Bighelli, A. The key role of ¹³C NMR analysis in the identification of individual components of *Polyalthia longifolia* leaf oil. *Flavour Fragr. J.* **2014**, *29*, 371–379.
- [18] Gerhard, U.; Thomas, S.; Mortishire-Smith, R. Accelerated metabolite identification by 'extraction NMR'. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2003**, *32*, 531–538.
- [19] Yapi, T.A.; Boti, J.B.; Attioua, B.K.; Ahibo, A.C.; Bighelli, A.; Casanova, J.; Tomi, F. Three new natural compounds from the root bark essential oil from *Xylopiya aethiopica*. *Phytochem. Anal.* **2012**, *23*, 651–656.
- [20] Weyerstahl, P.; Wahlburg, H.C.; Marschall, H.; Rustaiyan, A. New cadinene and bisabolene derivatives from the essential oil of *Pulicaria gnaphalodes*. *Liebigs Ann. Chem.* **1993**, 1117–1123.

Composition chimique et élucidation structurale de quatre nouveaux sesquiterpènes oxygénés de l'huile essentielle de feuilles de *Isolona dewevrei* (Annonaceae) de Côte d'Ivoire

Didjour Albert Kambiré^{1*}, Thierry Acafou Yapi², Ahmont Claude Landry Kablan¹, Zana Adama Ouattara³, Ange Bighelli⁴, Jean Brice Boti², Félix Tomi⁴, Joseph Casanova⁴.

¹UPR de Chimie Organique, Département de Mathématiques, Physique et Chimie, UFR des Sciences Biologiques, Université Péléforo Gon Coulibaly, BP 1328 Korhogo, Côte d'Ivoire.

²Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière, UFR Sciences des Structures de la Matière et Technologie, Université Félix Houphouët-Boigny, 22 BP 582 Abidjan, Côte d'Ivoire.

³Laboratoire de Chimie BioOrganique et de Substances Naturelles, Université Nangui Abrogoua, Abidjan, Côte d'Ivoire.

⁴UMR-CNRS 6134 SPE, Equipe Chimie et Biomasse, Université de Corse, 20 000 Ajaccio, France.

Résumé : Ce travail est une contribution à la caractérisation chimique des plantes aromatiques et médicinales de Côte d'Ivoire. Il a pour but d'étudier la composition chimique de cinq échantillons d'huile essentielle de feuilles de *Isolona dewevrei*, par une combinaison de techniques chromatographiques (CPG-Ir, CC) et spectroscopiques (CPG-SM, RMN ¹³C). L'échantillon S1, qui présentait des teneurs significatives en certains constituants non identifiés, a été fractionné par chromatographies répétitives sur colonne de gel de silice. Ainsi, quatre nouveaux sesquiterpènes oxygénés ont été isolés et leurs structures ont été élucidées par des analyses en RMN 1D, 2D et CPG-QTOF-SM : (5□H,10□Me)-6,12-oxido-éléma-1,3,6,11(12)-tétraène, 6,12-oxido-germacra-1(10),4,6,11(12)-tétraène, (1□H,5□H)-6,12-oxido-guaïa-6,10(14),11(12)-trièn-4□-ol et germacra-1(10),4,7(11)-trièn-6,12-□-lactone. Finalement, soixante-douze constituants, représentant 93,7 à 98,3% de la composition chimique, ont été identifiés. L'huile essentielle de feuilles de *Isolona dewevrei* est très riche en sesquiterpènes (72,5-79,4%). Elle est dominée par le germacrène B (14,2-24,8%), le germacrène D (4,9-17,8%), le (Z)-□-ocimène (4,8-12,4%), le (E)-□-caryophyllène (3,4-10,7%) et le (5□H,10□Me)-6,12-oxido-éléma-1,3,6,11(12)-tétraène (5,7-10,3%, nouvelle molécule). Les proportions des composés thermosensibles ont été évaluées par combinaison de la CPG-Ir et de la RMN ¹³C. Des tests biologiques sont en cours d'évaluation sur l'huile et les nouvelles molécules isolées pour déterminer leurs possibles utilisations thérapeutiques.

Mots clés : *Isolona dewevrei* ; huile essentielle de feuilles ; nouveaux sesquiterpènes naturels ; Côte d'Ivoire.

Chemical composition and structural elucidation of four new oxygenated sesquiterpenes from the leaf essential oil of *Isolona dewevrei* (Annonaceae) from Côte d'Ivoire

Abstract : This work is a contribution to the chemical characterization of aromatic and medicinal plants from Côte d'Ivoire. Its aim is to study the chemical composition of five samples of the leaf essential oil from *Isolona dewevrei*, by a combination of chromatographic (GC-RI, CC) and spectroscopic (GC-SM, ¹³C NMR) techniques. Sample S1, which exhibited significant contents of certain unidentified constituents, was fractionated by repetitive chromatographies on silica gel column. Thus, four new oxygenated sesquiterpenes were isolated and their structures were elucidated by 1D, 2D NMR and GC-QTOF-MS analyses: (5□H,10□Me)-6,12-oxido-elema-1,3,6,11(12)-tetraene, 6,12-oxido-germacra-1(10),4,6,11(12)-tetraene, (1□H,5□H)-6,12-oxido-guaia-6,10(14),11(12)-triene-4□-ol and germacra-1(10),4,7(11)-triene-6,12-□-lactone. Finally, seventy-two constituents, representing 93.7 to 98.3% of the chemical composition, were identified. The leaf essential oil of *Isolona dewevrei* is very rich in sesquiterpenes (72.5-79.4%). It is dominated by germacrene B (14.2-24.8%), germacrene D (4.9-17.8%), (Z)-□-ocimene (4.8-12.4%), (E)-□-caryophyllene (3.4-10.7%) and (5□H,10□Me)-6,12-oxido-elema-1,3,6,11(12)-tetraene (5.7-10.3%, new molecule). The proportions of heat-sensitive compounds were determined by combining GC-RI and ¹³C NMR. Biological activities are being evaluated on the oil and the isolated new molecules, to determine their possible therapeutic uses.

Keywords: *Isolona dewevrei*; leaf essential oil; new natural sesquiterpenes; Côte d'Ivoire

1. Introduction

Le genre *Isolona* Engl. (Annonaceae) se compose de 20 espèces largement répandues dans les forêts tropicales humides d'Afrique de l'Ouest, du Centre et de Madagascar. En Côte d'Ivoire, cinq espèces de ce genre poussent à l'état sauvage : *Isolona campanulata*, *Isolona cooperi*, *Isolona deightonii*, *Isolona soubreana* et *Isolona dewevrei*, un arbuste à feuilles persistantes pouvant atteindre 15 m de hauteur. *Isolona cooperi* et *Isolona campanulata* sont utilisées pour traiter les affections bronchiques, les maladies de la peau, l'hématurie, l'infertilité et pour faciliter l'accouchement [1,2].

Divers alcaloïdes, stérols et sesquiterpènes ont été isolés de *Isolona campanulata* et *Isolona cooperi* [3–5]. Concernant les constituants volatils, les compositions chimiques des huiles essentielles de *Isolona cooperi* et *Isolona campanulata* ont été déterminées. Les principaux constituants des huiles de feuilles et des écorces de tige de *Isolona cooperi* sont le (Z)- β -ocimène et le γ -terpinène, tandis que la composition de l'huile des écorces de racine est dominée par le 5-isopenténylindole et le (E)- β -caryophyllène [6]. L'huile essentielle de feuilles de *Isolona campanulata* est riche en sesquiterpènes et sa composition est dominée soit par l'eudesm-5- α -11-ol, soit par le (E)- β -caryophyllène et l' α -humulène [7]. En revanche, aucune étude phytochimique antérieure n'a été rapportée sur *Isolona dewevrei*. Dans la suite de nos travaux sur la caractérisation chimique des huiles essentielles de plantes aromatiques et médicinales de Côte d'Ivoire [8-13], nous rapportons, pour la première fois, la composition chimique de l'huile de feuilles de *Isolona dewevrei*, ainsi que l'isolement et l'élucidation structurale de quatre nouveaux composés naturels.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal – Extraction et fractionnement de l'huile essentielle

Les échantillons de feuilles fraîches ont été collectés sur des pieds individuels de *Isolona dewevrei* dans la forêt de Bossématé (Coordonnées géographiques : 6°26'57,9" N et 3°28'47,5" O) en avril 2016. Le matériel végétal a été authentifié par des botanistes du Centre Suisse de Recherches Scientifiques (CSRS) et du Centre National de Floristique (CNF) Abidjan, Côte d'Ivoire. Un spécimen de référence a été déposé à l'herbier du CNF, Abidjan, avec la référence LAA 12874. Les échantillons d'huile essentielle (S1 à S5) ont été obtenus par entraînement à la vapeur d'eau à l'aide d'un appareil de type Clevenger. L'échantillon S1 (3,9 g) a été répétitivement fractionné par chromatographie sur colonne (CC) comme indiqué sur la Figure 1.

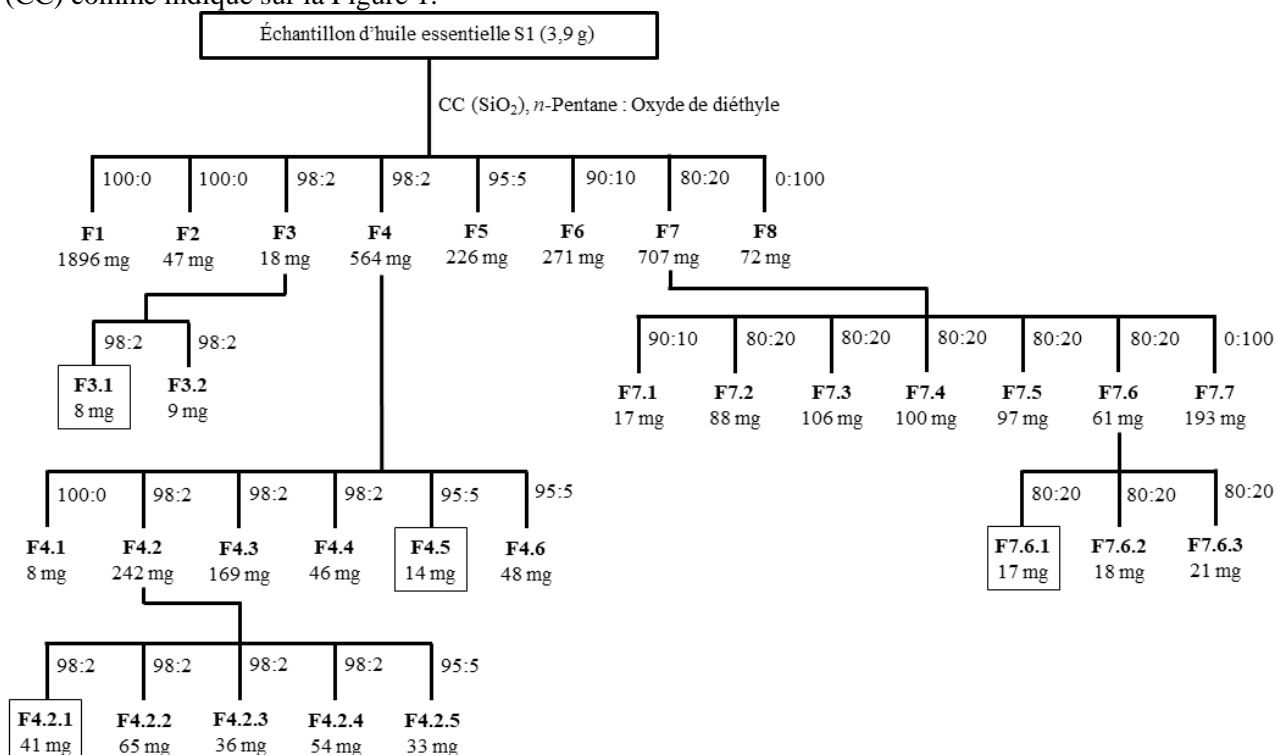


Figure 1 : Fractionnement de l'huile essentielle de feuilles de *Isolona dewevrei*

2.

les analyses et l'identification des constituants ont été réalisées avec le matériel technique et les méthodes décrites dans notre précédente étude [10].

3. Résultats et discussion

L'huile essentielle de feuilles de *Isolona dewevrei* a été isolée avec des rendements calculés sur une base pondérale (p/p) de 0,28 à 0,31%. Cinq échantillons ont été étudiés par combinaison de CPG-Ir, CPG-SM et RMN ^{13}C , suivant une méthode informatisée développée à l'Université de Corse [14,15]. Divers composés ont été identifiés par les trois techniques. Parmi les constituants majeurs, des monoterpènes usuels ont été identifiés, tels que le (*Z*)- α -ocimène (4,8 à 12,4%) et le (*E*)- α -ocimène (1,8 à 5,1%). Le germacrène B (14,2 à 24,8%), le germacrène D (4,9 à 17,8%), le (*E*)- β -caryophyllène (3,4 à 10,7%) et le β -élémane (4,3 à 7,9%) sont les principaux sesquiterpènes identifiés. Les composés portant les squelettes élémène et germacrane nécessitent une attention particulière. En effet, les germacrènes portant la sous-structure cyclodéca-1,5-diène sont partiellement ou totalement réarrangés en élémènes correspondants (réarrangement sigmatropique [3,3]), durant les analyses en CPG et CPG-SM [16]. Par exemple, le germacrène B et le β -élémane ont été identifiés par CPG-SM et par RMN dans l'échantillon S1, avec des teneurs similaires en CPG (respectivement 9,1 et 9,4%). Cependant, une situation différente émerge de l'examen du spectre RMN ^{13}C de l'échantillon. En effet, les intensités des signaux du germacrène B sont bien plus élevées que celles du β -élémane. Par conséquent, la teneur correcte de chaque composant a été obtenue par combinaison de CPG(FID) et RMN ^{13}C , en tenant compte de la somme des pourcentages de germacrène B et de β -élémane d'une part, et du rapport des moyennes des intensités des pics protonés de chaque composé d'autre part (germacrène B : 14,2% et β -élémane 4,3). Cependant, les proportions de β -élémane (3,9 à 4,0%) et de β -élémane (3,1 à 3,1%) sont les quantités réellement présentes dans l'huile essentielle et non le résultat de réarrangements, puisque les germacrène A et C ne sont pas détectés par RMN ^{13}C . Les composés thermosensibles sont l'une des principales causes de formation d'artefacts lors de l'analyse par CPG. Par conséquent, la combinaison de différentes techniques analytiques est fortement recommandée pour une meilleure caractérisation des huiles essentielles.

Malgré la combinaison de techniques complémentaires, divers constituants sont restés non identifiés, avec des teneurs appréciables, notamment dans l'échantillon d'huile essentielle S1 : composés A et B (respectivement 12,3 et 1,5% en CPG), composés C (2,4%) et D (1,4%). Par conséquent, l'échantillon S1 (3,9 g) a été soumis à une série de chromatographies sur colonne (CC) et ces composés ont été isolés et leurs structures élucidées par RMN 1D, 2D et CPG-QTOF-SM (Figure 2).

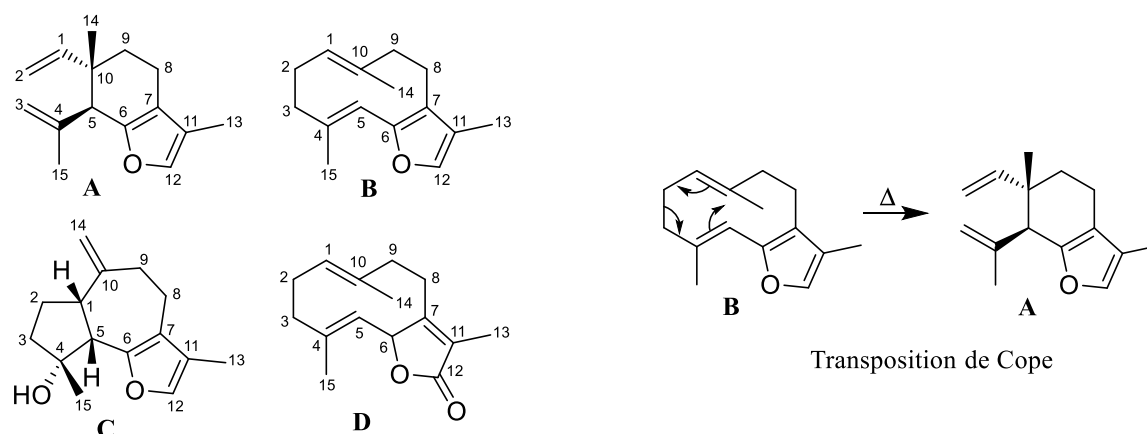


Figure 2 : Structures des composés A, B, C, D et transposition sigmatropique [3,3] de B en A.

3.1. Éluclation structurale du composé A

La masse exacte mesurée par CPG-QTOF-SM pour le composé A (93,9% dans la sous-fraction F4.2.1) est de 216,1499 g/mol et correspond à la formule empirique $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}$ qui implique six degrés d'insaturation. Huit des quinze signaux RMN ^{13}C sont des carbones sp^2 . La structure du composé est donc bicyclique. Les spectres RMN ^1H et ^{13}C mettent en évidence un groupe vinyle ($\text{CH}_2=\text{CH}-$) et un méthylène exocyclique, appartenant à une sous-structure isopropylidène (Tableau 1). Trois carbones quaternaires sp^2 associés à un proton CH (7,07 ppm) et un méthyle (8,13 ppm, ^{13}C), suggèrent la

présence d'un cycle furane trisubstitué. Dans l'ensemble, les données spectrales conduisent à un isomère du furanoélémane, le fragment furane étant lié au cycle cyclohexane sur les positions 6-7 ou 8-9. Le spectre RMN ^1H présente un ensemble de doublets de doublets de doublets caractéristiques d'un système A_2B_2 . L'un de ces signaux corrèle en HMBC avec le carbone C1, indiquant que le furane et le cycle cyclohexane sont liés sur les positions 6-7. D'autres corrélations dans le spectre HMBC ont permis de positionner les méthyles C14 et C15. Enfin, la stéréochimie *cis* du méthyle C14 et de l'isopropylidène est assurée par des corrélations à longue distance (NOESY), entre les protons H14, H15 et H3b d'une part et entre H1 et H5 d'autre part. Par conséquent, le composé A est identifié comme le (5 \square H,10 \square Me)-6,12-oxido-éléma-1,3,6,11-tétraène, une nouvelle molécule (Figure 2).

Tableau 1 : Données RMN du composé A

C	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	DEPT	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	Multiplicité (J (Hz))	HMBC	COSY	NOESY
1	146,83	CH	5,87	dd (17,5, 10,8)	2, 5, 9, 10, 14,	2a, 2b	2a, 5, 9b
2	111,36	CH ₂	a 4,95	dd (10,8, 1,1)	1, 9, 10	1, 2b	1, 2b, 3a
			b 4,99	dd (17,5, 1,1)	1, 9, 10	1, 2a	2a, 5
3	115,31	CH ₂	a 4,68	dq (1,5, 0,8)	4, 5, 15	3b	2b, 3b
			b 4,97	quint (1,5)	5, 15	3a	3a, 15
4	144,23	C	-	-	-	-	-
5	50,82	CH	3,26	s	1, 3, 4, 6, 7, 9, 10, 15	-	1, 2b, 9b
6	151,06	C	-	-	-	-	-
7	117,99	C	-	-	-	-	-
8	17,71	CH ₂	a 2,31	ddd (8,6, 5,7, 1,7)	6, 7, 9, 10	9a, 9b	8b, 9a, 14
			b 2,35	ddd (6,0, 4,8, 1,7)	6, 7, 9, 10	9a, 9b	8a, 9b, 13
9	32,99	CH ₂	a 1,56	ddd (13,4, 5,7, 4,8)	1, 7, 8, 10, 14	8, 9b	8a, 9b, 14
			b 1,74	ddd (13,4, 8,6, 6,0)	1, 7, 8, 10, 14	8, 9a	1, 5, 8b, 9a
10	40,09	C	-	-	-	-	-
11	119,05	C	-	-	-	-	-
12	137,60	CH	7,07	large s	6, 7, 11, 13	-	13
13	8,13	CH ₃	1,92	d (1,3)	6, 7, 11, 12	-	8b, 12
14	23,31	CH ₃	1,04	s	1, 5, 9, 10	-	8a, 9a, 15
15	23,10	CH ₃	1,69	dd (1,5, 0,8)	3, 4, 5	-	3b, 14

a, b : deux protons non-équivalents portés par le même atome de carbone.

3.2. Élucidation structurale du composé B

La sous-fraction F3.1 contient deux principaux composés, représentant 79,7 et 17,6%, selon le profil CPG, tous les autres constituants étant mineurs (moins de 0,3% chacun). Selon ses indices de rétention et son spectre de masse, le composé majoritaire est le composé A, le (5 \square H,10 \square Me)-6,12-oxido-éléma-1,3,6,11-tétraène précédemment caractérisé. En revanche sur le spectre RMN ^{13}C , le rapport des intensités moyennes des signaux protonés des deux composés est de 35/65, le composé minoritaire étant plutôt le composé A. Le composé majoritaire est nommé B. La comparaison des données CPG et RMN suggère que le composé B s'est en partie réarrangé thermiquement en composé A. Parallèlement au réarrangement thermique germacrène B/ \square -élémane et compte tenu du fait que le composé A porte le squelette élémane, l'hypothèse que le composé B possède une structure germacradiène, d'où un

réarrangement sigmatropique [3,3], a donc été émise. Les données spectroscopiques du composé B (Tableau 2) sont similaires celles du composé A : mêmes masse exacte (216,1499 g/mol) et formule brute (C₁₅H₂₀O), quatre doubles liaisons, deux cycles, dont un fragment furane tri-substitué mis en évidence à travers un proton à 7,11 ppm et des protons allyliques d'un groupe méthyle (¹H : 1,97 ppm, ¹³C : 8,15 ppm). D'autres signaux tels deux méthyles (17,95 et 19,96 ppm) et quatre méthylènes, allyliques (¹H : 1,88 à 2,61 ppm), confirment une sous-structure cyclodécadiène liée au fragment furane. Diverses corrélations COSY et HMBC indiquent deux groupes CH₂-CH₂ et permettent de correctement les relier aux deux doubles liaisons et au cycle furane. Finalement, la structure du composé B est élucidée en tant que le 6,12-oxido-germacra-1(10),4,6,11-tétraène. On peut remarquer que le réarrangement thermique de B a conduit au furanoélémente A (Figure 2).

3.3. Élucidation structurale du composé C

Le composé C (90,3%, fraction F4.5) a pour masse exacte 232,1458 g/mol, correspondant à la formule C₁₅H₂₀O₂ (6 degrés d'insaturation). Les spectres RMN indiquent la présence de 6 carbones sp² impliqués dans trois doubles liaisons C=C. La structure du composé C contient donc 3 cycles. Comme pour les composés A et B, un cycle furane trisubstitué est observable à travers un proton déblindé à 7,06 ppm (H12) et un méthyle à 1,91 ppm (H13) couplé à un carbone blindé à 8,15 ppm (C13). Aussi, un méthylène exocyclique CH₂=C et un alcool tertiaire C-OH sont détectés, ainsi qu'un méthyle probablement lié au carbone porteur de l'hydroxyle. Le proton à 2,88 ppm présente sur le spectre HMBC des corrélations avec deux carbones du cycle furane, le carbone hydroxylé, et en COSY, avec le proton à 2,66 ppm porté par le carbone C1 à 45,39 ppm (CH). Deux couples de CH₂-CH₂ sont également repérés dans les spectres COSY et HMBC. Les protons du premier couple corrélaient avec le carbone portant le groupe hydroxyle tandis que le deuxième couple corrélaient avec les carbones du méthylène exocyclique et avec les carbones du cycle furane. Les différentes corrélations observées conduisent un furanoguaïène. La stéréochimie *cis* de la jonction cyclique est déduite des corrélations NOESY entre les protons H1 et H5 et de la constante de couplage ³J_{H1-H5} = 12,6 Hz. La stéréochimie *cis* du méthyle C15 et des protons H1 et H5 est mise en évidence par leurs corrélations en NOESY, conduisant à la structure du (1R,5R)-6,12-oxido-guaïa-6,10(14),11(12)-triène-4-ol (Figure 2).

Tableau 2 : Données RMN du composé B

C	δ ¹³ C (ppm)	DEPT	δ ¹ H (ppm)	Multiplicité (J (Hz))	HMBC	COSY
1	125,19	CH	5,01	dd (12,1, 2,4)	2, 3, 9, 14	2a
2	27,19	CH ₂	a 2,14	m	1, 3, 10	1
			b 1,93	dd (12,1, 5,0)	1, 3, 10, 14	3b
3	39,94	CH ₂	a 1,91	m	2, 4, 5, 15	2a
			b 2,29	m	1, 2, 4, 5, 10, 15	3a
4	141,16	C	-	-	-	-
5	120,57	CH	5,36	large s	3, 4, 10, 15	-
6	151,11	C	-	-	-	-
7	118,96	C	-	-	-	-
8	25,10	CH ₂	a 2,39	dt (6,1, 1,5)	6, 7, 9	9a, 9b
			b 2,61	m	6, 7, 9	9a
9	38,95	CH ₂	a 1,88	large t (6,1)	1, 8, 10, 14	8b, 8a
			b 2,60	m	1, 8, 14	8a
10	133,79	C	-	-	-	-
11	120,49	C	-	-	-	-
12	136,82	CH	7,11	large s	7, 11, 13	13
13	8,15	CH ₃	1,97	d (1,2)	7, 11, 12	12
14	19,96	CH ₃	0,86	s	1, 2, 9	-
15	17,95	CH ₃	1,78	large s	3, 4, 5	-

a, b : deux protons non-équivalents portés par le même atome de carbone.

Tableau 3 : Données RMN du composé C

C	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	DEPT	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	Multiplicité (J (Hz))	HMBC	COSY	NOESY
1	45,39	CH	2,66	m	10, 5, 2	2, 5	5, 2a, 3a, 8b, 14a, 15
2	25,37	CH ₂	a 1,83	m	4, 5, 1, 3, 15	1, 3a, 3b	1, 3a, 5, 15
			b 1,99	m	4, 5, 1, 3, 15	1, 3a, 3b	3b, 8a, 9
3	38,12	CH ₂	a 1,84	m	4, 5, 1, 2, 15	2a, 2b	1, 2a, 5, 15
			b 2,00	m	4, 5, 1, 2, 15	2a, 2b	2b, 8a, 9
4	81,20	C	-	-	-	-	-
5	55,07	CH	2,88	d (12,6)	6, 7, 4, 1, 15	1	1, 2a, 3a, 8b, 15
6	151,33	C	-	-	-	-	-
7	122,30	C	-	-	-	-	-
8	21,83	CH ₂	a 2,34	m	6, 10, 7, 14, 1, 9	9	2b, 3b, 8b, 9
			b 2,54	t (2,2)	6, 10, 7, 14, 1, 9	9	1, 5, 8a, 9, 13
9	37,00	CH ₂	2,50	large d (7,5)	10, 7, 14	8a, 8b	2b, 3b, 8a, 8b
10	151,12	C	-	-	-	-	-
11	120,30	C	-	-	-	-	-
12	136,33	CH	7,06	large s	6, 7, 11, 13	-	13
13	8,17	CH ₃	1,91	d (1,2)	12, 7, 11	-	8b, 12
14	108,76	CH ₂	a 4,85	dd (2,9, 1,5)	10, 1, 9	14b	1, 14b
			b 4,91	dd (2,9, 1,5)	10, 1, 9	14a	14a
15	25,35	CH ₃	1,24	s	4, 5, 3	-	1, 2a, 3a, 5

a, b : deux protons non-équivalents portés par le même atome de carbone.

3.4. Éluclidation structurale du composé D

La sous-fraction F7.6.1 contenant le composé D (92,1%) a été soumise à des analyses spectroscopiques. La masse exacte mesurée est de 232,1454 g/mol et correspond à la formule empirique C₁₅H₂₀O₂. Les six centres d'insaturation déduits de la formule brute sont attribués à six carbones éthyléniques impliqués dans trois doubles liaisons, une fonction carbonyle et par conséquent deux cycles (Tableau 4). Le déplacement chimique du carbonyle blindé (174,02 ppm) couplé à un carbone quaternaire fortement déblindé (164,09 ppm) et à une méthine déblindé (80,94 ppm) suggèrent une sous-structure \square -lactone insaturée. Un méthyle blindé (8,75 ppm) est localisé en position \square du carbonyle sur le spectre HMBC. Chacun des deux autres méthyles étant corrélé à un carbone sp² d'une double liaison, les méthylènes restants appartiennent au même cycle, qui est à l'évidence un cyclodécadiène lié au cycle \square -lactone. Diverses corrélations HMBC permettent de situer chaque double liaison du cyclodécadiène par rapport à la \square -lactone. Par exemple, le proton déblindé (5,34 ppm) porté par le même carbone que l'atome d'oxygène sp³ de la lactone, est corrélé à la double liaison de la lactone et aux carbones d'une double liaison du cyclodécadiène. Le fort déblindage de cet proton est dû à sa position bis-allylique. Enfin, la position relative des deux doubles liaisons est confirmée par les spectres HMBC et COSY et la stéréochimie *trans* des doubles liaisons du cyclodécadiène est définie par les corrélations NOESY entre les protons H6 et H15 d'une part et entre H2 et H14 d'autre part. Le composé D est donc caractérisé comme le germacra-1(10),4,7(11)-trièn-6,12- \square -lactone (Figure 2).

Tableau 4 : Données RMN du composé D

C	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	DEPT	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	Multiplicité (J (Hz))	HMBC	COSY	NOESY
1	127,97	CH	4,74	dd (12,3, 2,6)	2, 3, 9, 10, 14	2a, 2b	2b, 3b, 6, 9a, 15
2	25,37	CH ₂	a 2,17	m	1, 3, 4, 10, 14	1, 3a, 3b	3a, 5, 14
			b 2,31	dd (12,3, 5,0)	1, 3, 9, 10	1, 3a, 3b	1, 3b
3	38,27	CH ₂	a 2,01	m	1, 2, 4, 5, 15	2a, 2b	2a, 5, 14
			b 2,21	m	1, 2, 4, 5, 9, 15	2a, 2b	1, 2b, 15
4	138,59	C	-	-	-	-	-
5	124,73	CH	4,29	d (10,3)	6, 7, 3, 15	6	2a, 3a, 13, 14
6	80,94	CH	5,34	large d (10,3)	4, 5, 7	5	1, 8, 9a, 15
7	164,08	C	-	-	-	-	-
8	25,92	CH ₂	2,77	dd (13,3, 9,0)	6, 7, 9, 10, 11	9a, 9b	6, 9a, 9b, 13, 14
9	39,81	CH ₂	a 2,15	m	1, 7, 8, 10, 14	8	1, 6, 8, 15
			b 2,50	large t (9,0)	1, 7, 8, 10, 14	8	8, 14
10	135,12	C	-	-	-	-	-
11	125,52	C	-	-	-	-	-
12	174,82	C	-	-	-	-	-
13	8,75	CH ₃	1,86	large s	7, 11, 12	-	5, 8, 14
14	15,89	CH ₃	1,56	s	1, 2, 9, 10	-	2a, 3a, 5, 8, 9b, 13
15	16,68	CH ₃	1,70	s	2, 3, 4, 5, 6	-	1, 3b, 6, 9a

a, b : deux protons non-équivalents portés par le même atome de carbone.

3.5. Composition chimique de l'huile essentielle de feuilles de *Isolona dewevrei*

L'analyse de cinq échantillons (S1 à S5) d'huile essentielle de feuilles de *Isolona dewevrei* par (CC), CPG-Ir, CPG-SM et RMN a permis l'identification de 72 composés, dont quatre nouveaux composés naturels, représentant au total 93,7 à 98,3% de la composition chimique (Tableau 5). Cette huile essentielle est dominée par les sesquiterpènes (72,5 à 79,4%), dont les plus abondants sont le germacrène B (14,2 à 24,8%), le germacrène D (4,9 à 17,8%), le (*E*)- α -caryophyllène (3,4 à 10,7%), le (5 α H,10 α Me)-6,12-oxido-éléma-1,3,6,11(12)-tétraène (5,7 à 10,3%, nouveau composé) et le α -élémane (4,3 à 7,9%). Parmi les monoterpènes, le (*Z*)- α -ocimène (4,8 à 12,4%) et le (*E*)- α -ocimène (1,8 à 5,1%) sont prédominants. Les teneurs des composés thermosensibles tels le germacrène B et le 6,12-oxido-germacra-1(10),4,6,11(12)-tétraène et celles de leurs produits de réarrangement, à savoir le α -élémane et le (5 α H,10 α Me)-6,12-oxido-éléma-1,3,6,11(12)-tétraène, sont déterminées par combinaison des données CPG(FID) et RMN ¹³C.

Tableau 5 : Composition chimique de l'huile essentielle de feuilles de *Isolona dewevrei*

N°	Composés	Ira	Irp	S1	S2	S3	S4	S5	Identification
1	α -Thujène	923	1016	0,2	0,6	0,5	0,6	0,6	Ir, SM, RMN ¹³ C
2	α -Pinène	931	1013	0,3	0,3	0,4	0,4	0,4	Ir, SM, RMN ¹³ C
3	Sabinène	965	1120	0,7	2,2	1,5	2,1	2,0	Ir, SM, RMN ¹³ C
4	β -Pinène	970	1109	0,2	0,3	0,4	0,5	0,4	Ir, SM, RMN ¹³ C
5	Myrcène	981	1158	0,3	0,7	0,5	0,6	0,7	Ir, SM, RMN ¹³ C
6	α -3-Carène	1 005	1146	-	tr	tr	0,1	0,1	Ir, SM
7	α -Terpinène	1 009	1178	0,1	0,2	0,1	0,1	0,2	Ir, SM
8	<i>p</i> -Cymène	1 012	1268	0,2	0,5	0,5	0,7	0,4	Ir, SM, RMN ¹³ C
9	Limonène	1 021	1199	0,1	2,0	3,1	3,6	3,1	Ir, SM, RMN ¹³ C
10	(<i>Z</i>)- α -Ocimène	1 025	1230	12,4	9,7	4,8	6,2	8,1	Ir, SM, RMN ¹³ C
11	(<i>E</i>)- α -Ocimène	1 036	1247	1,8	4,1	2,7	3,7	5,1	Ir, SM, RMN ¹³ C
12	β -Terpinène	1 048	1242	0,3	0,4	0,2	0,3	0,4	Ir, SM, RMN ¹³ C
13	Terpinolène	1 078	1279	tr	0,1	0,2	0,2	0,1	Ir, SM
14	Linalol	1 083	1543	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2	Ir, SM, RMN ¹³ C
15	<i>allo</i> -Ocimène	1 117	1370	0,4	0,3	0,1	0,1	0,2	Ir, SM, RMN ¹³ C
16	Terpinèn-4-ol	1 161	1597	0,2	0,3	0,2	0,3	0,2	Ir, SM, RMN ¹³ C
17	Citronellol	1 208	1761	0,1	0,1	-	-	-	Ir, SM
18	Géranol	1 233	1843	0,3	0,2	-	-	-	Ir, SM, RMN ¹³ C
19	Thymol	1 267	2178	1,1	1,2	0,2	0,1	tr	Ir, SM, RMN ¹³ C
20	Bicycloélémane	1 331	1485	0,2	0,3	0,1	0,2	0,2	Ir, SM, RMN ¹³ C
21	α -Elémène	1 334	1464	2,8	4,0	2,7	3,2	4,3	Ir, SM, RMN ¹³ C
22	α -Cubébène	1 347	1452	0,2	tr	0,1	0,1	0,1	Ir, SM, RMN ¹³ C
23	α -Ylangène	1 368	1475	-	0,1	0,1	0,1	0,1	Ir, SM
24	α -Copaène	1 374	1485	0,3	0,1	0,3	0,4	0,3	Ir, SM, RMN ¹³ C
25	β -Elémène	1 385	1583	2,1	3,1	3,8	3,8	3,4	Ir, SM, RMN ¹³ C
26	Cypérène	1 404	1524	0,3	-	0,2	0,2	0,3	Ir, SM, RMN ¹³ C
27	<i>cis</i> - α -Bergamotène	1 409	1561	0,2	tr	0,1	0,1	tr	Ir, SM, RMN ¹³ C
28	(<i>E</i>)- α -Caryophyllène*	1 416	1589	10,7	3,4	9,9	9,8	7,8	Ir, SM, RMN ¹³ C
29	α -Santalène*	1 416	1565	0,2	0,1	tr	tr	tr	Ir, SM, RMN ¹³ C
30	α -Jasmolactone	1 419	2204	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	Ir, SM
31	β -Elémène#	1 426	1 630	4,3	7,5	7,9	7,4	7,1	Ir, SM, RMN ¹³ C
32	<i>épi</i> - α -Santalène	1 441	1 626	0,3	0,1	0,1	0,1	0,1	Ir, SM, RMN ¹³ C
33	(<i>E</i>)- α -Farnésène	1 446	1 660	0,2	0,1	tr	tr	0,1	Ir, SM, RMN ¹³ C
34	α -Humulène	1 448	1 662	1,8	0,6	1,7	1,7	1,3	Ir, SM, RMN ¹³ C
35	(5 α H,10 α Me)-6,12-Oxido-éléma-1,3,6,11(12)-tétraène#	1 455	1 837	10,3	tr	6,4	5,7	6,5	RMN ID, 2D
36	6,12-Oxido-germacra-1(10),4,6,11(12)- tétraène#	1 463	1 845	3,5	-	0,6	0,5	0,5	RMN ID, 2D
37	α -Curcumène	1 469	1 766	0,2	tr	tr	0,3	0,2	Ir, SM, RMN ¹³ C
38	α -Muuroolène	1 471	1 683	1,4	0,2	2,7	2,6	2,2	Ir, SM, RMN ¹³ C
39	Germacrène D	1 474	1 700	11,1	17,8	4,9	5,6	7,8	Ir, SM, RMN ¹³ C
40	<i>trans</i> - α -Bergamotène	1 478	1 676	0,3	-	0,5	0,5	0,5	Ir, SM, RMN ¹³ C
41	α -Sélinène	1 484	1 710	0,3	0,1	0,1	0,1	tr	Ir, SM, RMN ¹³ C
42	Bicyclogermacrène*	1 491	1 721	1,1	0,2	0,4	0,4	0,5	Ir, SM, RMN ¹³ C
43	(<i>Z</i>)- α -Bisabolène	1 492	1 724	0,2	0,3	tr	0,1	0,1	Ir, SM, RMN ¹³ C
44	α -Cadinène	1 493	1 753	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2	Ir, SM, RMN ¹³ C
45	β -Bisabolène	1 500	1 719	0,3	tr	0,1	0,1	0,1	Ir, SM, RMN ¹³ C
46	(<i>E,E</i>)- α -Farnésène	1 501	1 748	0,3	0,2	0,4	0,4	0,3	Ir, SM, RMN ¹³ C
47	(<i>Z</i>)- α -Curcumène	1 506	1 732	0,3	tr	-	-	0,2	Ir, SM, RMN ¹³ C
48	α -Sesquiphellandrène	1 512	1 766	0,2	0,3	-	-	-	Ir, SM, RMN ¹³ C

49	□-Cadinène	1 514	1 753	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	Ir, SM, RMN ¹³ C
50	Cadina-1,4-diène	1 519	1 762	0,2	tr	tr	tr	tr	Ir, SM, RMN ¹³ C
51	(Z)-□-Bisabolène	1 521	1 721	0,4	tr	0,7	0,7	0,5	Ir, SM, RMN ¹³ C
52	<i>trans</i> -Hydrate de sesquisabinène	1 530	1 984	0,2	tr	0,4	0,5	0,3	Ir, SM, RMN ¹³ C
53	(E)-□-Bisabolène	1 531	1 761	0,3	0,6	tr	tr	tr	Ir, SM, RMN ¹³ C
54	□-Elémol	1 536	2 077	0,5	tr	0,5	0,5	0,4	Ir, SM, RMN ¹³ C
55	(E)-Nérolidol	1 547	2 034	0,2	0,1	0,1	tr	0,1	Ir, SM, RMN ¹³ C
56	Germacrène B#	1 549	1 818	14,2	24,8	24,5	22,3	21,1	Ir, SM, RMN ¹³ C
57	Santalenone	1 560	1 980	0,2	tr	tr	0,1	tr	Ir, SM, RMN ¹³ C
58	Oxyde de caryophyllène	1 567	1 973	0,3	0,2	1,4	1,6	1,2	Ir, SM, RMN ¹³ C
59	Guaïol	1 581	2 119	0,8	0,2	tr	tr	tr	Ir, SM, RMN ¹³ C
60	Humulène oxyde II	1 597	2 042	0,2	0,6	tr	0,1	tr	Ir, SM, RMN ¹³ C
61	<i>épi</i> -Cubénol	1 605	2 046	0,2	0,5	0,4	0,2	0,2	Ir, SM, RMN ¹³ C
62	Alismol	1 609	2 245	0,2	0,9	1,4	1,1	0,7	Ir, SM, RMN ¹³ C
63	Cubénol	1 619	2 064	0,6	tr	-	-	-	Ir, SM, RMN ¹³ C
64	□-Eudesmol	1 620	2 172	1,0	0,5	0,9	0,6	0,6	Ir, SM, RMN ¹³ C
65	□-Cadinol	1 626	2 174	0,1	tr	0,1	0,1	0,1	Ir, SM
66	Muurola-4,10(14)-dièn-8□-ol	1 629	2 186	0,9	tr	0,1	0,1	0,1	Ir, SM, RMN ¹³ C
67	□-Cadinol	1 637	2 231	0,7	0,1	0,7	0,7	0,6	Ir, SM, RMN ¹³ C
68	Germacrone	1 671	2 219	tr	3,5	-	-	-	Ir, SM, RMN ¹³ C
69	Cadina-1(10),4-dièn-8□-ol	1 672	2 306	0,3	tr	0,1	0,1	-	Ir, SM, RMN ¹³ C
70	Cadina-4,10(14)-dièn-8□-ol	1 678	2 280	0,5	0,1	0,4	0,1	0,3	Ir, SM, RMN ¹³ C
71	(1□H,5□H)-6,12-Oxido-guaïa-6,10(14),11(12)-trièn-4□-ol	1 754	2 519	2,4	0,7	2,2	1,4	1,2	RMN 1D, 2D
72	(6□H)-Germacra-1(10),4,7(11)-trièn-6,12-□-lactone	1 856	2 829	1,4	0,6	0,8	0,5	0,6	RMN 1D, 2D
Monoterpènes hydrocarbonés				17,0	21,4	15,0	19,2	21,8	
Monoterpènes oxygénés				1,9	1,9	0,5	0,5	0,4	
Sesquiterpènes hydrocarbonés				54,8	64,4	61,6	60,6	59,0	
Sesquiterpènes oxygénés				24,6	8,2	16,6	14,0	13,5	
Total identifié				98,3	95,9	93,7	94,3	94,7	

Ordre d'éluion et pourcentages donnés sur colonne apolaire (BP-1), exceptés les composés dont les noms sont suivis d'un astérisque (*) pour lesquels les pourcentages sont donnés sur colonne polaire (BP-20) ; (#) composés thermolabiles dont les pourcentages sont déterminés par la combinaison de la CPG et de la RMN ¹³C ; Ir : indices de rétention sur colonnes apolaire (Ira) et polaire (Irp) ; tr = traces (<0,05%) ; RMN ¹³C : composés identifiés par RMN ¹³C directement dans les échantillons ; RMN ¹³C : composés identifiés par RMN ¹³C dans une fraction de chromatographie.

4. Conclusion

La composition chimique de l'huile essentielle de feuilles de *Isolona dewevrei* de Côte d'Ivoire est rapportée pour la première fois. L'étude réalisée grâce à la combinaison de techniques chromatographiques et spectroscopiques a conduit à l'identification de 72 constituants (93,7 à 98,3%). Quatre nouveaux sesquiterpènes naturels ont été isolés et leurs structures élucidées : (5□H,10□Me)-6,12-oxido-éléma-1,3,6,11(12)-tétraène, 6,12-oxido-germacra-1(10),4,6,11(12)-tétraène, (1□H,5□H)-6,12-oxido-guaïa-6,10(14),11(12)-trièn-4□-ol et germacra-1(10),4,7(11)-trièn-6,12-□-lactone. Les feuilles de *Isolona dewevrei* produisent une huile riche en sesquiterpènes. Les principaux composés sont le germacrène B, le germacrène D, le (Z)-□-ocimène, le (E)-□-caryophyllène, le (5□H,10□Me)-6,12-oxido-éléma-1,3,6,11(12)-tétraène (nouveau composé), le □-élémente et le (E)-□-ocimène. Des tests biologiques sont en cours d'évaluation sur l'huile essentielle et les nouvelles molécules isolées pour déterminer leurs possibles utilisations thérapeutiques.

5. Remerciements

Les auteurs remercient chaleureusement le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique de Côte d'Ivoire pour avoir accordé une bourse de recherche à D. A. Kambiré. Nous remercions Messieurs J. Assi et H. Téré pour leur aide précieuse dans l'identification de la plante. Les auteurs remercient également H. Brevard et N. Barat (Robertet S.A.) pour leur assistance technique lors de l'analyse HRSM-IE.

6. Bibliographie

- [1] Couvreur, T.L.P. Revealing the Secrets of African Annonaceae: Systematics, Evolution and Biogeography of the Syncarpous Genera *Isolona* and *Monodora*. PhD Thesis, Wageningen University, Wageningen, The Netherlands, **2008**, p. 294.
- [2] Aké, A.L. Flore de Côte d'Ivoire: Étude descriptive et biogéographique avec quelques notes ethno-botaniques. Thèse de Doctorat ès-Sciences Naturelles, Université d'Abidjan, Abidjan, Côte d'Ivoire, **1984**, p. 1206.
- [3] Hocquemiller, R.; Cabalion, P.; Bruneton, J.; Cavé, A. Alcaloïdes des Annonacées XXIII. Alcaloïdes des écorces d'*Isolona campanulata* Engler et Diels. *Plantes Médicinales Phytothérapie* **1978**, *12*, 230–234.
- [4] Okpekon, A.T. Étude chimique et biologique de plantes ivoiriennes utilisées en médecine traditionnelle en tant qu'antiparasitaires: *Afromomum sceptrum* K. Schum. (Zingiberaceae), *Bridelia ferruginea* Benth. (Euphorbiaceae), *Isolona*

- cooperi* Hutch. & Dalz. et *Uvaria afzelii* Sc. Elliot (Annonaceae). Thèse de doctorat, Université Paris-Sud, France–Université de Cocody-Abidjan, Côte d’Ivoire, Paris, France, **2006**, p. 283.
- [5] Kabran, A.F. Étude phytochimique de plantes ivoiriennes à activité antiparasitaire. Thèse de doctorat, Université Paris-Sud, France–Université de Cocody-Abidjan, Côte d’Ivoire, Paris, France, **2013**, p. 290.
- [6] Boti, J.B.; Koukoua, G.; N’Guessan, Y.T.; Muselli, A.; Bernardini, A.F.; Casanova, J. Composition of the leaf, stem bark and root bark oils of *Isolona cooperi* investigated by GC (retention index), GC-MS and ¹³C-NMR spectroscopy. *Phytochem. Anal.* **2005**, *16*, 357–363.
- [7] Boti, J.B.; Yao, A.P.; Koukoua, G.; N’Guessan, Y.T.; Casanova, J. Components and chemical variability of *Isolona campanulata* Engler & Diels leaf oil. *Flavour Fragr. J.* **2006**, *21*, 166–170.
- [8] Kambiré, D.A.; Boti, J.B.; Ouattara, Z.A.; Yapi, A.T.; Bighelli, A.; Tomi, F.; Casanova, J. Leaf essential oil from Ivoirian *Isolona dewevrei* (Annonaceae): Chemical composition and structure elucidation of four new natural sesquiterpenes. *Flavour Fragr. J.* **2021**, *36*, 22–33.
- [9] Nea, F.; Kambiré, D.A.; Genva, M.; Tanoh, E.A.; Wognin, E.L.; Martin, H.; Brostaux, Y.; Tomi, F.; Lognay, G.C.; Tonzibo, Z.F.; et al. Composition, Seasonal Variation, and Biological Activities of *Lantana camara* Essential Oils from Côte d’Ivoire. *Molecules* **2020**, *25*, 2400–2422.
- [10] Kambiré, D.A.; Boti, J.B.; Yapi, A.T.; Ouattara, Z.A.; Paoli, M.; Bighelli, A.; Tomi, F.; Casanova, J. Composition and intraspecific chemical variability of leaf essential oil of *Laggera pterodonta* (DC.) Sch. Bip. ex Oliv. from Côte d’Ivoire. *Chem. Biodivers.* **2020**, *17*, e1900504.
- [11] Kambiré, D.A.; Yapi, A.T.; Boti, J.B.; Ouattara, Z.A.; Tonzibo, Z.F.; Filippi, J.J.; Bighelli, A.; Tomi, F. Two new eudesman-4-ol epoxides from the stem essential oil of *Laggera pterodonta* from Côte d’Ivoire. *Nat. Prod. Res.* **2020**, *34*, 2765–2771.
- [12] Kambiré, D.A.; Boti, J.B.; Filippi, J.J.; Tonzibo, Z.F.; Tomi, F. Characterization of a new epoxy-hydroxycarvotanacetone derivative from the leaf essential oil of *Laggera pterodonta* from Côte d’Ivoire. *Nat. Prod. Res.* **2019**, *33*, 2109–2112.
- [13] Kambiré, D.A.; Yapi, A.T.; Boti, J.B.; Garcia, G.; Tomi, P.; Bighelli, A.; Tomi, F. Chemical composition of leaf essential oil of *Piper umbellatum* and aerial part essential oil of *Piper guineense* from Côte d’Ivoire. *Nat. Prod. Commun.* **2019**, *14*, 1–8.
- [14] Tomi, F.; Bradesi, P.; Bighelli, A.; Casanova, J. Computer-aided identification of individual components of essential oils using carbon-13 NMR spectroscopy. *J. Magn. Reson. Anal.* **1995**, *1*, 25–34.
- [15] Ouattara, Z.A.; Boti, J.B.; Ahibo, A.C.; Sutour, S.; Casanova, J.; Tomi, F.; Bighelli, A. The key role of ¹³C NMR analysis in the identification of individual components of *Polyalthia longifolia* leaf oil. *Flavour Fragr. J.* **2014**, *29*, 371–379.
- [16] Baldovini N, Tomi F, Casanova J. Identification and quantitative determination of furanodiene, a heat-sensitive compound, in essential oil by ¹³C-NMR. *Phytochem. Anal.* **2001**, *12*, 58–63.



Caractérisation chimique des huiles essentielles de feuilles et de tiges de *Laggera pterodonta* de Côte d'Ivoire : Isolement et élucidation structurale de trois nouvelles molécules

Didjour Albert Kambiré^{1*}, Thierry Acafou Yapi², Ahmout Claude Landry Kablan¹, Zana Adama Ouattara³, Jean-Jacques Filippi⁴, Mathieu Paoli⁵, Ange Bighelli⁵, Jean Brice Boti², Félix Tomi²

¹UPR de Chimie Organique, Département de Mathématiques, Physique et Chimie, UPR des Sciences Biologiques, Université Pélégro Gon Coulibaly, BP 1328 Kouroua, Côte d'Ivoire.

²Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière, UPR Sciences des Structures de la Matière et Technologie, Université Félix Houphouët-Boigny, 22 BP 582 Abidjan, Côte d'Ivoire.

³Laboratoire de Chimie Biologique et de Substances Naturelles, Université Nangui Abrogoua, Abidjan, Côte d'Ivoire.

⁴UMR 7272 CNRS Parc Valrose, Institut de Chimie de Nice, Université de Nice-Sophia Antipolis, Nice Cedex 2, France.

⁵UMR-CNRS 6134 SPE, Equipe Chimie et Biomasse, Université de Corse, 20 000 Ajaccio, France.

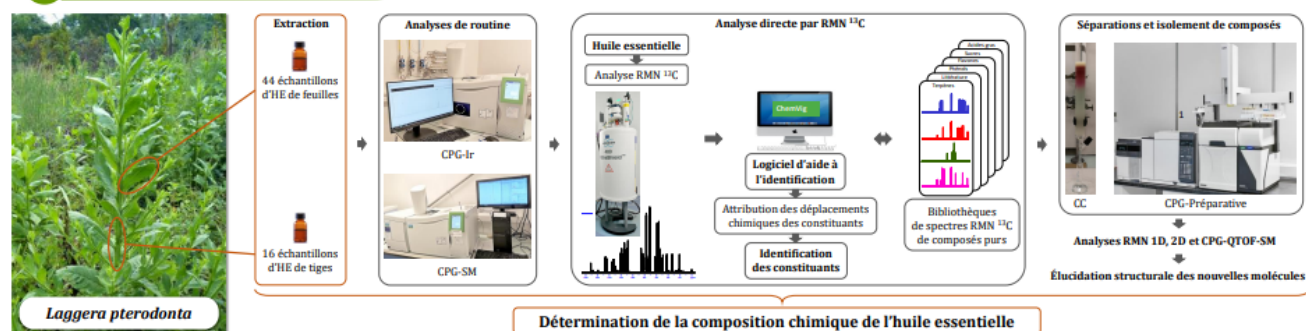
*auteur : dkambira@gmail.com

Groupe Thématique 2 (ReSBOA)

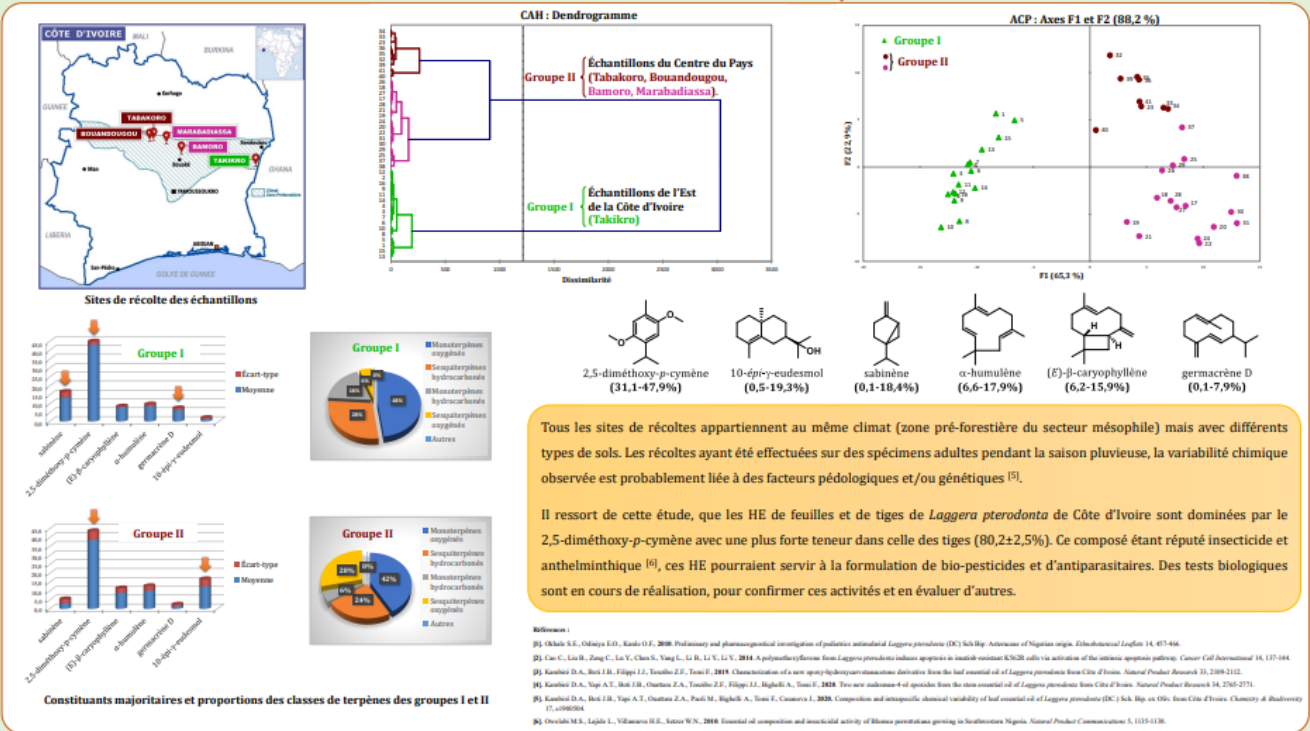
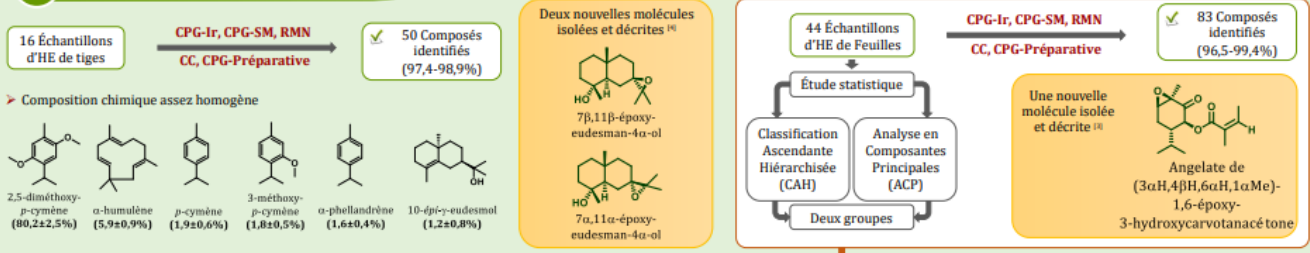
1 INTRODUCTION

Laggera pterodonta (Asteraceae) est une plante aromatique et médicinale largement utilisée pour le traitement d'affections telles le paludisme pédiatrique, l'hépatite et le cancer^[1,2]. Elle appartient au genre *Laggera*, constitué de 20 espèces largement répandues en Afrique subsaharienne et en Asie. Cette étude s'inscrit dans le contexte de valorisation des plantes aromatiques de la flore ivoirienne. Elle a pour objectif la caractérisation chimique des huiles essentielles (HE) de feuilles et de tiges de *L. pterodonta*, par combinaison des techniques chromatographiques (CPG-Ir, CC, CPG-Préparative) et spectroscopiques (CPG-SM, RMN ¹³C).

2 MATÉRIEL ET MÉTHODES



3 RÉSULTATS ET DISCUSSION



Tous les sites de récoltes appartiennent au même climat (zone pré-forestière du secteur mésophile) mais avec différents types de sols. Les récoltes ayant été effectuées sur des spécimens adultes pendant la saison pluvieuse, la variabilité chimique observée est probablement liée à des facteurs pédologiques et/ou génétiques [5].

Il ressort de cette étude, que les HE de feuilles et de tiges de *Lagera pterodonta* de Côte d'Ivoire sont dominées par le 2,5-diméthoxy-*p*-cymène avec une plus forte teneur dans celle des tiges (80,2±2,5%). Ce composé étant réputé insecticide et anthelminthique [6], ces HE pourraient servir à la formulation de bio-pesticides et d'antiparasitaires. Des tests biologiques sont en cours de réalisation, pour confirmer ces activités et en évaluer d'autres.

Références :

[1] Okoh S.E., Oshota E.O., Kado O.F., 2008. Preliminary and phytochemical investigation of pedicular essential oil *Lagera pterodonta* (DC) Sch Bip. *African Journal of Botany* 14, 457-466.

[2] Guo C., Liu B., Zeng C., Lu Y., Chen S., Yang L., Li B., Li Y., Li Y., 2014. A polyprenylphenol from *Lagera pterodonta* induces apoptosis in insulin-resistant K562 cells via activation of the intrinsic apoptosis pathway. *Cancer Cell International* 14, 137-144.

[3] Kambh D.A., Bui J.R., Filappi J.J., Touho Z.F., Tsou F., 2013. Characterization of a new epoxy-hydroxycarvotanacetone derivative from the leaf essential oil of *Lagera pterodonta* from Côte d'Ivoire. *Natural Product Research* 31, 2389-2392.

[4] Kambh D.A., Bui J.R., Ouedrao Z.A., Touho Z.F., Filappi J.J., Hignell A., Tsou F., 2020. Two new eudesman-4-ol species from the stem essential oil of *Lagera pterodonta* from Côte d'Ivoire. *Natural Product Research* 34, 2765-2771.

[5] Kambh D.A., Bui J.R., Yapi A.T., Ouedrao Z.A., Paul M., Hignell A., Tsou F., Coumoro J., 2020. Comparative and intraspecific chemical variability of leaf essential oil of *Lagera pterodonta* (DC) Sch. Bip. on 05c from Côte d'Ivoire. *Chemistry & Biodiversity* 17, e202000014.

[6] Ouedrao Z.A., Yapi A.T., Coumoro J., 2016. Essential oil composition and insecticidal activity of *Lagera pterodonta* growing in Southwestern Nigeria. *Natural Product Communications* 5, 1335-1338.

Synthèse et activités antibactériennes de nouveaux dérivés thiouraciles

Rachelle Die¹, Ambeu Christelle¹, Fanté Bamba¹, Marie-Aude Hiebel², Franck Suzenet², Aurélie Vallin³, Vincent Chagnault³

1 Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière (LCRM), Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY (UFHB), 22 BP 582 Abidjan 22 (Cote d'Ivoire)

2 Institut de Chimie Organique et Analytique, Université d'Orléans, BP 6759 45067 Orléans (France)

3 Laboratoire LG2A, Université de Picardie Jules Verne, BP 80000 Amiens (France)

Les maladies infectieuses causées par des bactéries sont devenues un problème majeur de santé publique ces dernières années [1], de sorte que l'inefficacité des médicaments après une période d'utilisation est préoccupante. Ce fait entraîne une recherche permanente de nouveaux remèdes antimicrobiens capables de surmonter la résistance des bactéries [2]. Plusieurs produits synthétiques et naturels ayant une activité biologique remarquable contiennent le squelette pyrimidine [3]. De même, les hétérocycliques contenant les motifs benzimidazole, benzoxazole et benzothiazole [4] sont des cibles importantes en synthèse organique fine. Ainsi, l'élaboration de nouveaux composés antibactériens avec la combinaison de ces pharmacophores, échappant à la résistance des bactéries, s'avère utile. Pour atteindre cet objectif, nous avons de prime abord synthétisé divers noyaux pyrimidine que nous avons couplés par réaction de S-alkylation avec les pharmacophores benzimidazole, des groupements aryles et des fluorophores organiques. Nous avons obtenu de nouvelles molécules dont les tests biologiques antibactériens ont été réalisés. Pour conclure, on note une meilleure activité antibactérienne de l'association du motif pyrimidine avec les groupements aryles comparativement au pharmacophore benzimidazole et analogues. En perspective, nous prévoyons d'abord fonctionnaliser les pyrimidines de départ puis remplacer le motif benzimidazole par des groupements aryles fluorescents et enfin évaluer les activités biologiques.

Mots clés : antibactérien ; pyrimidine ; benzimidazole et analogues

Synthesis and antibacterial activities of new thiouracil derivatives

infectious diseases caused by bacteria have become a major public health problem in recent years [1], so the ineffectiveness of drugs after a period of use is a concern. This fact leads to a permanent search for new antimicrobial remedies capable of overcoming the resistance of bacteria [2]. Several synthetic and natural products with remarkable biological activity contain the pyrimidine skeleton [3]. Similarly, heterocyclics containing benzimidazole, benzoxazole and benzothiazole units [4] are important targets in fine organic synthesis. Thus, the development of new antibacterial compounds with the combination of these pharmacophores, escaping the resistivity of bacteria, proves useful. To achieve this objective, we first synthesized various pyrimidine nuclei which we have coupled by S-alkylation reaction with the pharmacophores benzimidazole, and analogs, aryl groups and organic fluorophores. We have obtained new molecules for which the antibacterial biological tests have been carried out. To conclude, there is a better antibacterial activity of the association of the pyrimidine unit with the aryl groups compared to the pharmacophores benzimidazole and analogs. In perspective, we plan first to functionalize the starting pyrimidines then to replace the benzimidazole motif with fluorescent aryl groups and finally to evaluate the biological activities.

Key words: antibacterial, pyrimidine, benzimidazole, benzoxazole and analogs.

1. Introduction

L'émergence des bactéries multirésistantes aux antibiotiques pour le traitement des infections [5] constitue aujourd'hui l'une des plus graves menaces sur la santé mondiale. Car plus de 35000 personnes meurent chaque année sur les 2,8 millions d'infectés aux Etats-Unis. De même, le nombre de décès causé par des bactéries résistantes en Europe est passé de 25000 en 2007 à 33000 par an [6]. Quant à la sous-région occidentale de l'Afrique subsaharienne le taux de mortalité dû aux maladies infectieuses en 2019 était estimé à 27.3 sur 100000 [7]. De plus, l'organisation mondiale de la santé (OMS) a prédit que d'ici 2050, le nombre de personnes qui mourront à cause de la résistance aux antibiotiques passera de 700 000 à environ 10 millions par an dans le monde [6,7]. Au vu de cette situation préoccupante, la synthèse de nouveaux composés antimicrobiens efficaces contre la résistance des bactéries s'avère nécessaire. La pyrimidine fait partie intégrante de l'ADN et de l'ARN [8] et possède diverses activités biologiques telles que antioxydante, anti-inflammatoire, antibactériennes [9]. Par conséquent, de nombreux médicaments à l'exemple de l'ICLAPRIM (MRSA) [10] contenant une fraction pyrimidine ont été observés. En raison de l'importance pharmacologique des dérivés de la pyrimidine, le présent travail présente la mise au point de nouveaux dérivés thiouraciles à visée antibactérienne.

2. Matériel et méthodes

Toutes les réactions ont été suivies par chromatographie sur couche mince (CCM) en utilisant des plaques de gel de silice (60 F254) et les composés ont été visualisés par irradiation UV à 365 et 254 nm. La chromatographie flash sur colonne a été réalisée sur gel de silice 60. Les spectres infrarouges des composés sont donnés en cm^{-1} et ont été enregistrés sur un FT-IR Thermo Scientific Nicolet iS10. Les spectres RMN ^1H et ^{13}C ont été enregistrés à 250 MHz (^{13}C , 62,9 MHz) ou à 400 MHz (^{13}C , 100,7 MHz). Les déplacements chimiques sont donnés en parties par million en utilisant le tétraméthylsilane (TMS) comme standard interne. Les constantes de couplage (J) sont indiquées en Hertz (Hz) (multiplicité : s = singulet, d = doublet, dd = double doublet, dt = double triplet, t = triplet, q = quartet, m = multiplet...). Les spectres de masse à haute résolution (HRMS) ont été réalisés sur un analyseur quadripolaire.

2.1. Synthèse des composés 1a-g

Les pyrimidines **1a-g** ont été synthétisées à partir de la réaction de Biginelli en présence de K_2CO_3 [11] ou de pipéridine [12]

2.2. Synthèse des composés (2a-2n)

On ajoute dans un ballon contenant 20-30 ml d'éthanol absolu les pyrimidines **1a-g** (100 mg, 1 éq) et le KOH (2.5 éq). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 1h puis on y ajoute portion par portion (1-2 éq) du 2-chlorométhyle (benzimidazole ou benzoxazole) ou le 2-bromométhyle (benzothiazole ou triazapentalène). On porte le mélange au reflux durant 1h-6h. Après refroidissement, le mélange est concentré. Le précipité obtenu est lavé par les solvants organiques et purifier sur colonne.

2.3. Protocole des tests antibactériens pour déterminer la CMI (Concentration Minimale Inhibitrice)

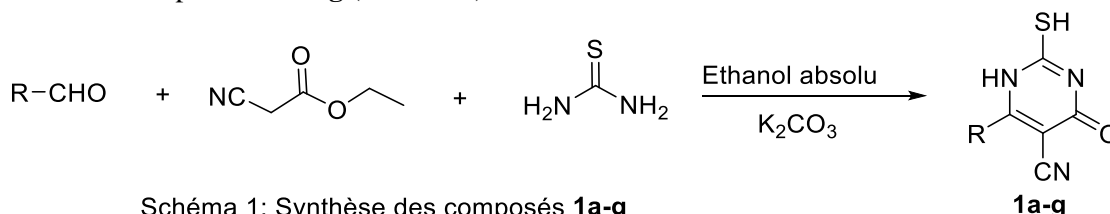
Les tests ont été réalisés dans une microplaque de 96 puits.

A 5 μL de la solution de chaque composé dans le DMSO stérile à différentes concentrations (256-0.063 $\mu\text{g}/\text{mL}$), a été ajouté 225 μL de milieu de culture Mueller-Hinton (préalablement préparé) et 20 μL des différents inocula. La microplaque a été incubée à 37°C pendant 24 heures. La ciprofloxacine (médicament antibactérien connu) a été utilisée pour comparer l'efficacité des activités des composés testés vis-à-vis des bactéries. 6,4 mg/mL de ciprofloxacine dans HCl (1N) est dissous dans l'eau stérile et testée dans les mêmes conditions que les composés avec la même gamme de concentration (256-0.063 $\mu\text{g}/\text{mL}$). La lecture de la microplaque est réalisée grâce à un lecteur de plaque à une longueur d'onde de 600 nm. La valeur d'absorbance supérieure à 0,1 signifie qu'il y a un trouble dans le puits traduisant la croissance bactérienne. Dans ce cas, le composé n'a pas permis l'inhibition de la bactérie et ne possède donc pas une activité antibactérienne à la concentration correspondante. Dans le cas contraire, l'absence de trouble se traduit par une absorbance inférieure à 0,1 indiquant que le composé a inhibé la croissance bactérienne à la concentration correspondante et possède donc une activité antibactérienne.

3. Résultats et discussion

3.1. Synthèse des composés

Les aldéhydes aromatiques appropriés, le cyano acétate d'éthyle et la thiourée en présence de K_2CO_3 dans l'éthanol absolu à reflux réagissent à travers une réaction de condensation pour donner les dérivés thiouraciles correspondants **1a-g** (Schéma 1).



Les composés **1a-g** ont été caractérisés en RMN ^1H et ^{13}C par les déplacements chimiques indiqués dans le Tableau 1.

Tableau 1 : Déplacements chimiques des composés **1a-g**

Produits	Déplacements chimiques δ (ppm)			
	C=O	CN	NH	R
1a	176.33	114.84	13.14	C ₆ H ₅
1b	175.8	114.15	-	C ₅ H ₄ N
1c	176.39	114.13	13.10	4-OMe-C ₆ H ₄
1d	175.7	114.15	11.5	2-MeO-C ₆ H ₄
1e	181.72	118.81	11.67	C ₄ H ₃ S
1f	176.8	115.43	11.59	3- C ₆ H ₅ -OCH ₂ -C ₆ H ₄
1g	183	118.37	11.34	C ₇ H ₁₃

Les composés finaux **2a-n** ont été obtenus par la S-alkylation des composés **1a-g** en présence de KOH dans l'éthanol (Schéma 2).

Ils sont isolés avec des rendements allant de 50% à 95%.

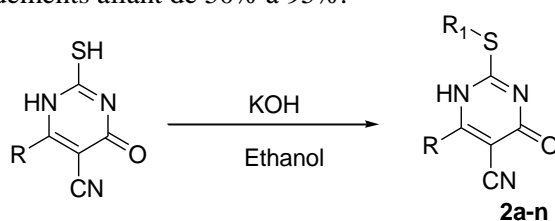


Schéma 2: Synthèse des composés **2a-n**

Ils ont tous été caractérisés par RMN (¹H et ¹³C) et par Spectrométrie de Masse Haute Résolution.

Les spectres en RMN ¹H des composés **2a-n** montrent l'apparition d'un signal entre (4-5) ppm qui correspond au déplacement chimique du groupement (SCH₂) provenant de la S-alkylation.

Les déplacements chimiques des composés **2a-n** sont répertoriés dans le tableau 2 ci-dessous.

Tableau 2 : Déplacements chimiques des composés **2a-n**

Produits	Déplacements chimiques δ (ppm)				
	C=O	CN	SCH ₂	R	R ₁
2a	176.33	114.84	4.78	C ₆ H ₅	benzimidazole
2b	170.59	110.83	4.63	C ₆ H ₅	benzoxazole
2c	170.10	119.92	4.72	C ₆ H ₅	benzothiazole
2d	166.2	115.21	4.8	C ₅ H ₄ N	benzimidazole
2e	180.58	110.56	4.64	C ₅ H ₄ N	benzoxazole
2f	194.04	114.94	5.05	C ₅ H ₄ N	benzothiazole
2g	183	113.77	4.5	4-MeO-C ₆ H ₄	benzimidazole
2h	170.52	110.67	4.63	4-MeO-C ₆ H ₄	benzoxazole
2i	171.7	113.4	4.72	4-MeO-C ₆ H ₄	benzothiazole
2j	170.47	110.53	4.69	2-MeO-C ₆ H ₄	benzoxazole
2k	169.58	110.28	4.61	2-MeO-C ₆ H ₄	benzothiazole
2l	176.37	114.91	-	C ₅ H ₄ S	C ₆ H ₅
2m	174.35	111.94	4.48	C ₆ H ₅	triazapentalène
2n	170.84	110.06	4.35	4-MeO-C ₆ H ₄	triazapentalène

En SMHR, les composés **2a-n** donnent l'ion de m/z [M+H]⁺ correspondant à l'ion moléculaire protoné.

3.2. Évaluation des activités antibactériennes

Les activités antibactériennes des composés **2a-n** ont été évaluées sur *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) et *Escherichia coli* (*E. coli*), des bactéries à Gram négatif puis sur *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) et *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*), des bactéries à Gram positif, au Laboratoire de Glycochimie, des Antimicrobiens et des Agroressources (LG2A) de l'Université de Picardie Jules Vernes (UPJV), Amiens (France).

Les résultats des Concentrations Minimales d'Inhibition (CMI) des composés testés sont consignés dans les tableaux suivants.

Les analyses n'ayant pas été effectuées à la même période nous avons donc des résultats avec différentes concentrations pour la ciprofloxacine.

Tableau 3 : Concentration minimale d'inhibition (CMI, µg/mL) des molécules actives **1f** et **1g**

Composés	<i>E. faecalis</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Ciprofloxacine (ctrl +)	1	0.125	8	1
1f	128	-	-	-
1g	-	-	256	-

Tableau 4 : Concentration minimale d'inhibition (CMI, µg/mL) des molécules actives **2b,i,e,l**

Composés	<i>E. faecalis</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Ciprofloxacine (ctrl +)	0,5	0,063	4	0,125
2b	-	-	256	-
2i	-	-	256	-
2e	256	-	-	-
2l	-	-	128	-

D'après les résultats des tests biologiques, les molécules actives n'ont pas montré d'activités sur les bactéries à gram négatif (*E. coli* et *P. aeruginosa*) mais plutôt sur les bactéries à gram positif (*E. faecalis* et *S. aureus*).

Les composés (**1f** et **2e**) ont montré une faible activité sur *E. faecalis* comparativement à la ciprofloxacine. Néanmoins, l'activité de **1f** est deux fois supérieure à celle de **2e**.

Les composés (**1g** ; **2b** ; **2i** ; **2l**) ont montré une faible activité sur *S. aureus* comparativement à la ciprofloxacine. Le composé **2l**, le plus actif, possède une activité 2 fois supérieure à celle des composés **1g** ; **2b** et **2i**.

Après l'analyse structure-activité, on note que les pyrimidines (**1a** ; **1b** ; **1c** et **1d**) portant respectivement les groupements (phényle ; pyridine ; p-méthoxyphényle et o-méthoxyphényle) ne possèdent pas d'activité. En revanche, les pyrimidines (**1e** ; **1f** et **1g**) portant respectivement les groupements (thiophène ; 3-benzoyloxybenzène et l'heptyle) ont montré une activité.

On observe également que le remplacement de la liaison (carbone-soufre) dans les composés (**2a** ; **2b** et **2c**) par la liaison (carbone-carbone) porté par un groupement thiophène dans le composé (**2l**) a apporté à la molécule une meilleure activité.

4. Conclusion

Les travaux effectués dans cette étude ont permis la synthèse de 21 molécules. On note une bonne activité bactérienne de certaines molécules en particulier sur *Enterococcus faecalis*. Dans les futurs

recherches, nous prévoyons le remplacement du motif benzimidazole, benzoxazole et benzothiazole par les groupements aryles en vue de l'amélioration de l'activité bactérienne.

5. Bibliographie

- [1]. Lakemeyer, M.; Zhao, W; Mandl, F. A.; Hammann, P.; Sieber, S. A. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57* (44), 14440–14475.
- [2]. Schmidt, F. R. J. *Applied Microbiology and Biotechnology.* 2004, *63* (4), 335–343.
- [3]. Madkour, H. M. F.; Farag, A. A.; Ramses, S. Sh.; Ibrahiem, N. A. A. J. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements.* 2006, *181* (2), 255–265.
- [4]. Meng, Y.; Li, E.; Zhang, Y.; Liu, S.; Bao, C.; Yang, P.; Zhang, L.; Zhang, D.; Wang, J.; Chen, Y.; Li, N.; Xin, J.; Zhao, P.; Ke, Y.; Zhang, Q.; Liu, H. *Chin. J. Org. Chem.* 2019, *39* (9), 2541.
- [5]. Ankita, S. Patel.; Ujashkumar, A. Shah. *J. Medical Pharmaceutical and Allied Sciences*, 2022, *11*(2) ,4650 – 4656.
- [6]. Emmanuel- Nji, et Joseph -Kazibwe, *Scientific Reports* (2021) *11* :3372
- [7]. Mohsen- Naghav. J. *Lancet*, 2022, *399*, 629–55
- [8]. Chetan, M. Bhalgat; B. Ramesh. J. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University* (2014), *52*, 259–267
- [9]. Rana, N. Atiya; Nada, A. Salih. *J. Drug Delivery Technology.* 2022;*12*(1):174-179
- [10]. Stephan, A. Kohlhoff; Roopali Sharma. *Expert Opin. Investig. Drugs* (2007), *16*(9),1441-1448
- [11]. S. Kambe; K. Saito, a one step synthesis of 4-oxo-2-thioxopyrimidine derivatives by the ternary condensation of ethyl cyanoacetate, aldehydes, and thiourea, *synthesis*; deu; da. 1979; no 4; pp. 287-289
- [12]. Fante -Bamba; Jinshan. J; A.S. Chaudhary; Phang. C. Tai; B. Wang. *J. Medicinal Chemistry Research*, 2021, *30*, 1334–1340

Activité antioxydante de *Cyclosorus afer* (Thelypteridaceae)

Brou Helvis Koffi¹, Kabran Aka Faustin^{1*}, Kablan Ahmont Landry Claude^{1,2}, Ouffoué Koffi Sébastien¹, Konan Dibi Jacques¹, Attioua Koffi Barthélemy¹

¹Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière, UFR SSMT, Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.

²UFR Sciences Biologiques, Université PeleforoGON COULIBALY, BP 1328 Korhogo, Côte d'Ivoire

Résumé

Cyclosorus afer est utilisée en médecine traditionnelle pour traiter le paludisme et les règles douloureuses. Malgré ces usages, très peu de données chimiques et biologiques existent sur cette espèce. L'objectif de ce travail est de mettre en évidence l'activité antioxydante des extraits hydro-acétoniques et hydro-méthanoliques des feuilles, des pédoncules et des racines de cette plante. Les poudres obtenues après séchage et pulvérisation des organes de la plante ont été extraites par macération avec les systèmes méthanol/eau (90 :10) et acétone/eau (90 :10). L'activité antioxydante des extraits a été évaluée *in vitro* par la méthode au DPPH. Les références utilisées sont la vitamine C et la quercétine. L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits des différents organes a montré que les extraits hydro-acétoniques sont plus actifs que les extraits hydro-méthanoliques pour les trois organes étudiés. En outre, les extraits des feuilles sont les moins actifs. Ce travail a permis de montrer que les organes de *C. afer* n'ont pas le même potentiel anti-radicalaire. Ce résultat est également valable pour les extraits d'un même organe. Dans la suite de ce travail, nous envisageons isoler et élucider la structure des molécules responsables de l'activité antioxydante des extraits de la plante.

Mots clés : *Cyclosorus afer* ; DPPH ; extrait hydro-acétonique

Antioxidant activity of *Cyclosorus afer* (Thelypteridaceae)

Abstract

Cyclosorus afer is used in traditional medicine to treat malaria and painful periods. Despite these uses, very few chemical and biological data exist on this species. The objective of this work is to highlight the antioxidant activity of hydro-acetone and hydro-methanol extracts from the leaves, peduncles and roots of this plant. The powders obtained after drying and pulverizing the plant organs were extracted by maceration with the methanol/water (90:10) and acetone/water (90:10) systems. The antioxidant activity of the extracts was evaluated *in vitro* by the DPPH method. The references used are vitamin C and quercetin. The evaluation of the antioxidant activity of the extracts of the different organs showed that the hydro-acetone extracts are more active than the hydro-methanolic extracts for the three organs studied. Also, leaf extracts are the least active. This work showed that the organs of *C. afer* do not have the same anti-radical potential. This result is also valid for extracts from the same organ. In the continuation of this work, we plan to isolate and elucidate the structure of the molecules responsible for the antioxidant activity of the plant extracts.

Key words: *Cyclosorus afer* ; DPPH ; hydro-acetone extract

1. Introduction

Les plantes constituent depuis toujours une source essentielle dans le traitement de certaines maladies. Leur pouvoir thérapeutique est dû à des substances actives provenant des métabolites secondaires sur lesquels l'industrie pharmaceutique moderne s'appuie pour trouver de nouvelles molécules [1]. Dès lors, il est impératif de mener des recherches approfondies sur les plantes pour la découverte de nouvelles substances si l'on considère que chacune d'elles peut contenir des centaines, voire des milliers de métabolites secondaires [2]. Cependant, le degré d'activité de ces métabolites secondaires n'est pas systématiquement identique dans tous les organes de la plante. Partant de cet aspect, et dans le but de contribuer à la valorisation des plantes médicinales ivoiriennes, nous nous sommes intéressés à l'étude chimique de *Cyclosorus afer*. En effet, *C. afer* est une ptéridophyte utilisée en médecine traditionnelle pour traiter diverses maladies telles que le paludisme et les règles douloureuses [3, 4]. Malgré ses usages en médecine traditionnelle, très peu de données chimiques et biologiques existent sur cette plante [5], d'où son choix. Notre étude a consisté à comparer l'activité antioxydante des extraits hydro-acétoniques et hydro-méthanoliques des feuilles, des pédoncules et des racines de cette espèce.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel

2.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de feuilles, de pédoncules et de racines de *Cyclosorus afer*.

2.1.2. Matériel technique et appareillage

Dans cette étude, outre la verrerie courante de laboratoire, nous avons utilisé une balance électronique de précision (Sartorius TE 214S) pour les pesées, un évaporateur rotatif Heidolph (LABOROTA 4000) pour l'évaporation du solvant des extraits, un spectrophotomètre UV-VIS (Jenway 7315 Spectrophotometer) pour la mesure des absorbances et un appareil de broyage de type Retsch. Par ailleurs, les produits chimiques utilisés sont de qualité analytique (pureté 99,9% en moyenne).

2.2. Méthodes

2.2.1. Récolte et identification

Les feuilles, les pédoncules et les racines de *Cyclosorus afer* ont été récoltés dans la forêt classée de Yapo Abbé (Sud-est de la Côte d'Ivoire) en novembre 2018. L'identification et l'authentification de la plante ont été faites par les botanistes du Centre Suisse de Recherche Scientifique (Herbier N° CA-KF-01-2018).

2.2.2. Séchage et pulvérisation

Après la récolte du matériel végétal frais, il a été séché à la température ambiante (25°C) sur les paillasses du laboratoire, à l'abri de la lumière du soleil, pendant quinze jours puis finement broyé à l'aide d'un appareil de type Retsch.

2.2.3. Extraction

Les poudres obtenues après pulvérisation ont été soumises à une extraction solide-liquide, par macération en milieu neutre avec les systèmes méthanol/eau (90 :10) et acétone/eau (90 :10). 10 g de poudre de chaque organe de plante ont été traités à température ambiante par 200 mL de solvant pendant 48 h. Les extraits sont obtenus après filtration et évaporation du solvant.

2.2.4. Détermination de l'activité antioxydante des extraits

L'activité antioxydante *in vitro* des extraits des organes de *Cyclosorus afer* a été évaluée par la méthode au DPPH. Cette méthode est basée sur le piégeage du radical DPPH[•] par l'ajout d'une espèce de radical ou un antioxydant qui décolore la solution de DPPH [6]. Dans cette étude l'activité antioxydante est obtenue par détermination de la CI_{50} qui est la concentration des antioxydants nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH[•]. Elle est déterminée graphiquement. Les références utilisées sont l'acide L-ascorbique (vitamine C) et la quercétine. Les tests ont été effectués en duplicate.

3. Résultats et discussion

La détermination des CI_{50} des antioxydants standards a donné 1,34 µg/mL pour la Quercétine et 4,46 µg/mL pour la Vitamine C (Fig. 1). Nous considérerons par la suite qu'un extrait est inactif lorsque sa CI_{50} est supérieure à 200 µg/mL.

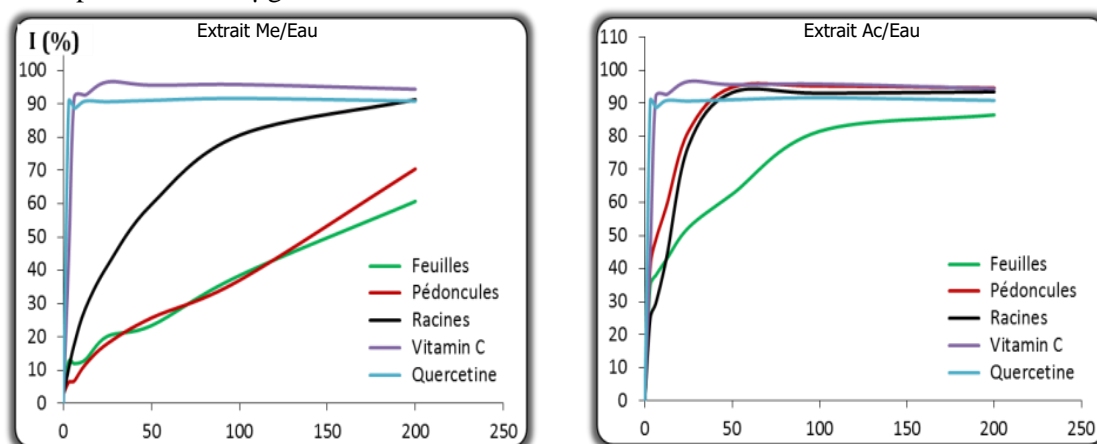


Figure 1 : Courbes d'activité antioxydante des organes de *Cyclosorus afer*

L'analyse de la figure 1 montre que les extraits étudiés sont moins actifs que les références utilisées. L'extrait brut hydro-acétonique des feuilles ($CI_{50} = 20,45 \mu\text{g/mL}$) est environ sept fois plus actif que l'extrait hydro-méthanolique ($CI_{50} = 151,78 \mu\text{g/mL}$) du même organe de la plante. Au niveau des pédoncules, l'extrait hydro-méthanolique est faiblement actif ($CI_{50} = 141,91 \mu\text{g/mL}$). L'extrait hydro-acétonique a une activité très intéressante ($CI_{50} = 6,38 \mu\text{g/mL}$) comparable à celle de la vitamine C ($CI_{50} = 4,46 \mu\text{g/mL}$).

Par ailleurs, les extraits hydro-méthanolique et hydro-acétonique des racines de *C. afer* ont des activités anti-radicalaires relativement modestes. De plus, l'extrait brut hydro-acétonique est plus de deux fois plus actif ($CI_{50} = 14,28 \mu\text{g/mL}$) que l'extrait hydro-méthanolique ($CI_{50} = 35,05 \mu\text{g/mL}$).

L'activité antioxydante observée dans ces extraits pourrait s'expliquer par la présence de composés phénoliques [7]. De façon générale, les extraits hydro-acétoniques sont plus actifs que les extraits hydro-méthanoliques pour les trois organes de plante. La plus forte activité a été obtenue avec l'extrait hydro-acétonique des pédoncules ($CI_{50} = 6,38 \mu\text{g/mL}$) tandis que la plus faible activité a été observée dans l'extrait hydro-méthanolique des feuilles ($CI_{50} = 151,78 \mu\text{g/mL}$). Par ailleurs, les extraits des feuilles ont montré les plus faibles activités. En outre, ces résultats indiquent que le système acétone/eau (90 :10) extrait mieux les composés responsables de l'activité anti-radicalaire.

4. Conclusion

L'étude du pouvoir d'inhibition des extraits hydro-acétoniques et hydro-méthanoliques des organes (feuilles, pédoncules et racines) de *Cyclosorus afer*, montre que l'activité antioxydante des extraits hydro-acétoniques est plus élevée que celle des extraits hydro-méthanoliques dans les trois organes. Le système acétone/eau (90 :10) extrait donc mieux les composés antioxydants. La plus forte activité a été obtenue avec l'extrait hydro-acétonique des pédoncules ($CI_{50} = 6,38 \mu\text{g/mL}$) tandis que la plus faible a été observée dans l'extrait hydro-méthanolique des feuilles ($CI_{50} = 151,78 \mu\text{g/mL}$). Par ailleurs, les extraits des feuilles ont montré les plus faibles activités. Une étude phytochimique basée sur l'isolement des molécules responsables de l'activité antioxydante est envisagée.

5. Bibliographie

- [1]. Yété, P. ; Togbé, A. ; Yaya, K. ; Pascal, A. ; Vital, N. ; Djèntonin, S.T. ; Dieudonné, W. ; Eni-Coffi, A. et Dominique, S. Etude comparative des composés phénoliques et activité antiradicalaire des extraits des graines de *Garcinia kola* (Guttiféreae) et de *Cucumeropsisedulis* (cucurbitacées) du Bénin. *Int. J. of Innov. and Sci. Res.* (2015), 15 (1), pp. 217-227.
- [2]. Hostettmann, K. et Marston, A. Twenty years of research into medicinal plants: results and perspectives. *Phytochem. Rev.* (2002), 1, pp. 275-285.
- [3]. Adou, L.M.D. ; Gonezieti, B.B.H.J. et Zirihi, G.N. Enquête ethnobotanique et utilisations des Ptéridophytes du parc national du Banco, District d'Abidjan (Côte d'Ivoire). *J. Anim. Plant Sci.* (2018), 38 (2), pp. 6206-6216.
- [4]. Komlaga, G. ; Agyare, C. ; Dickson, R.A. ; Mensah, M.L.K. ; Annan, K. ; Loiseau, M.P. et Champy, P. Medicinal plants and finished marketed herbal products used in the treatment of malaria in the Ashanti region, Ghana. *J. Ethnopharmacol.* (2015), 172, pp. 333-346.
- [5]. Aina, O.I. et Oyedapo, O.O. *In vitro* investigations into the antioxidant and anti inflammatory potentials of the fractions and ethanolic extract of *Cyclosorus afer* (Christ.) Ching, stalks. *I. J. S.*, (2013), 15 (2), pp. 235-249.
- [6]. Krishnaiah, D. ; Sarbatly, R. et Nithyanandam, R. A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food Bioprod. Process.* (2011), 89, pp. 217-233.
- [7]. Kanfon, R.E. ; Gnawe, M. ; Agbangnan, D.C.P. ; Yedomonhan, H. ; Wotto, D.V. et Sohounhloue, C.K.D. Caractérisation physico-chimique et évaluation de l'activité anti-radicalaire des extraits de sept morphotypes de gombo (*Abelmoschus* spp.) cultivés au Bénin. *I.J.B.C.S.* (2018), 12 (3), pp.1447-1458.

Isolement et purification de composés phénoliques de *Ocimum gratissimum*

Kacou Koffi Christ Emmanuel Mondésir¹, Kabran Aka Faustin^{1*}, Kablan Ahmont Landry Claude^{1,2}, Koua Oi Koua¹, Adiko Assamoi Vincent¹, Konan Dibi Jacques¹, Attioua Koffi Barthélemy¹

¹Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière, UFR SSMT, Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.

²UFR Sciences Biologiques, Université Peleforo GON COULIBALY, BP 1328 Korhogo, Côte d'Ivoire

Auteur correspondant : kabranakafaustin@yahoo.fr

Résumé

Ocimum gratissimum est une plante utilisée dans l'alimentation et en médecine traditionnelle pour ses multiples vertus thérapeutiques [1, 2]. Les travaux de N'guessan et al. (2009) [3] et Kpètèhoto et al. (2017) [4] révèlent la présence de composés phénoliques dans les feuilles de cette plante. Notre étude vise à extraire ses composés phénoliques et à évaluer leur potentiel antioxydant. La combinaison des méthodes d'extraction (solide-liquide et liquide-liquide) et chromatographiques (CCM et CC) a permis d'isoler et purifier deux composés phénoliques. Le tri-phytochimique a été effectué avec les méthodes classiques de caractérisations chimiques. L'activité antioxydante des extraits obtenus a été évaluée par la méthode au DPPH. Les références utilisées sont la vitamine C et la quercétine. Le screening phytochimique a permis de mettre en évidence la présence d'alkaloïdes, de polyphénols, d'anthocyanes, de flavonoïdes, d'indoles, de stérols et terpènes. Le test d'activité anti-oxydante réalisé sur les extraits de la plante a montré une activité importante des extraits à l'acétate d'éthyle et au dichlorométhane. Cette étude a permis d'isoler pour la première fois des polyphénols de cette espèce. Nous projetons élucider la structure des composés isolés grâce aux analyses spectrales telles que la résonance magnétique nucléaire, la spectrométrie de masse, l'ultraviolet et l'infrarouge.

Mots clés : *Ocimum gratissimum* ; polyphénols ; antioxydant

Isolation and purification of phenolic compounds from *Ocimum gratissimum*

Abstract

Ocimum gratissimum is a plant used in food and in traditional medicine for its multiple therapeutic properties [1, 2]. The work of N'guessan et al. (2009) [3] and Kpètèhoto et al. (2017) [4] revealed the presence of phenolic compounds in the leaves of this plant. Our study aims to extract its phenolic compounds and evaluate their antioxidant potential. The combination of extraction (solid-liquid and liquid-liquid) and chromatographic (TLC and CC) methods made it possible to isolate and purify two phenolic compounds. The phytochemical screening was carried out with the classic methods of chemical characterization. The antioxidant activity of the extracts was evaluated by the DPPH method. The references used are vitamin C and quercetin. Phytochemical screening revealed the presence of alkaloids, polyphenols, anthocyanins, flavonoids, indoles, sterols and terpenes. The antioxidant activity test carried out on the plant extracts showed significant activity of the ethylacetate and dichloromethane extracts. This study made it possible to isolate polyphenols from this species for the first time. We plan to elucidate the structure of isolated compounds using spectral analyzes such as nuclear magnetic resonance, mass spectrometry, ultraviolet and infrared.

Key words: *Ocimum gratissimum* ; polyphenols ; antioxidant

1. Introduction

L'utilisation traditionnelle des plantes en Afrique pour des raisons thérapeutiques est une pratique ancestrale et courante. En effet, malgré les progrès actuels de la médecine moderne, environ 80% de la population africaine a encore recours à la médecine traditionnelle [5]. Cette situation peut s'expliquer, en partie, par les habitudes socio-culturelles, les contraintes économiques, l'efficacité relative de certains remèdes traditionnels et l'éloignement ou l'insuffisance des centres de santé modernes dans la plupart des pays en voie de développement. Dans la très grande majorité des cas, les remèdes traditionnels à base de plantes sont employés sans que l'on connaisse la composition chimique de celles-ci. Les risques encourus sont entre autres l'intoxication et même l'empoisonnement. C'est en vue de contribuer à une meilleure connaissance des plantes médicinales les plus employées en Côte d'Ivoire que cette étude a été initiée sur *Ocimum gratissimum*. En Côte d'Ivoire, *Ocimum gratissimum* communément appelée « avromangninin » ou encore « mangninin » est utilisée dans l'alimentation et en médecine traditionnelle pour ses multiples vertus thérapeutiques. Parmi les plantes les plus employées en Côte d'Ivoire, *Ocimum gratissimum* figure en bonne position. Les travaux de N'guessan et al. (2009) [3] et Kpètèhoto et al. (2017) [4] révèlent la présence de composés phénoliques dans les feuilles de cette plante médicinale.

Ces travaux s'étant limités à des tests de caractérisation sur les extraits bruts, l'objectif de cette étude est d'isoler et de caractériser ses composés phénoliques.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel

2.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de feuilles de *Ocimum gratissimum*.

2.1.2. Matériel technique et appareillage

Le matériel technique est constitué de la verrerie courante de laboratoire, de plaques d'aluminium recouvertes de silice, de gel de silice Merck (40-63 μ m), de gel de Sephadex[®] LH-20 et de papier filtre (Whatman paper, circles, 15 mm). Au niveau des appareils, nous avons utilisé une balance électronique de précision (Sartorius TE 214S) pour les pesées, un évaporateur rotatif Heidolph (LABOROTA 4000) pour l'évaporation du solvant des extraits, un agitateur magnétique (Oxford Lab Products BenchMate VM-D), une lampe UV 254 nm (230V, 50 Hz), une étuve (BINDER BD 53), un spectrophotomètre UV-VIS (JENWAY, 7315 Spectrophotometer) pour la mesure des absorbances et un appareil de broyage de type Retsch. Les produits chimiques utilisés sont de qualité analytique (pureté 99,9% en moyenne).

2.2. Méthodes

2.2.1. Récolte et identification

Les feuilles de *Ocimum gratissimum* ont été récoltées en décembre 2020 à Bocanda, ville située au centre de la Côte d'Ivoire. L'identification de la plante a été effectuée par les botanistes du Centre Suisse de Recherche Scientifique (Herbier N° OG-KF-01-2020).

2.2.2. Séchage et pulvérisation

Les feuilles récoltées ont été séchées sur les paillasses du laboratoire, à la température ambiante (25°C), à l'abri de la lumière du soleil, pendant 14 jours. Les organes séchés ont été ensuite réduits en poudre à l'aide d'un broyeur électrique de marque Retsch.

2.2.3. Extraction, isolement et purification

Les extractions ont été réalisées par macération, en milieu neutre, à température ambiante (25°C). Une masse de 500g de poudre de feuilles de *O. gratissimum*, a été extraite deux fois de suite, respectivement par 3,5 L et 2 L d'un mélange acétone/eau (90 :10) pendant 24h. Après filtration et évaporation du solvant, l'extrait brut hydro-acétonique (OGFe) (37 g) a été obtenu. Cet extrait a été dissout dans 250 mL d'eau distillée. La phase hydraulique obtenue a été extraite successivement avec l'hexane (3 x 250 mL), le dichlorométhane (4 x 250 mL) et l'acétate d'éthyle (4 x 200 mL). Après évaporation à sec des phases organiques, les extraits, hexanique (OGFeHex) (10,6 g), dichlorométhane (OGFeDCM) (6,5 g) et acétate d'éthyle (OGFeAE) (1,2 g) ont été obtenus. La phase aqueuse résiduelle a été séchée à l'étuve pour donner l'extrait aqueux résiduel (OGFeR) (9,7 g). L'extrait résiduel (OGFeR) qui présentait un profil chromatographique peu complexe sur couche mince a été choisi pour être purifié. Ainsi, il a subi un lavage à l'hexane, au dichlorométhane, à l'acétate d'éthyle et à l'éther diéthylique pour donner le composé P1 (8 g) et la fraction F (120 mg) après évaporation des solvants de lavage. La fraction F a été purifiée par combinaison de chromatographie sur colonne de gel de Sephadex[®] LH-20 (EtOH 100%), par CCM préparative (Hexane/MeOH 8 : 2) et par chromatographie sur colonne de gel de silice (Hexane/MeOH 9 : 1) pour donner le composé P2 (12 mg). Le système hexane/méthanol (8 : 2) a été utilisé comme éluant pour les CCM, et les composés ont été révélés à l'UV 254 nm et à la vanilline sulfurique.

2.2.4. Caractérisation chimique des composés

Nous avons utilisé les tests de coloration et de précipitation standards pour mettre en évidence les grands groupes chimiques dans les extraits des feuilles de *O. gratissimum* selon les méthodes décrites par Harbone (1998) [6] et Munier (1935) [7]. Les composés mis en évidence sont les stérols et terpènes, les alcaloïdes, les polyphénols totaux, les saponosides, les anthocyanes, les tanins (catéchiques, galliques et phlobatanins), les glycosides cardiotoniques, les flavonoïdes, les leucoanthocyanes, les quinones, les anthraquinones, les indoles et les anthracénosides.

2.2.5. Détermination de l'activité antioxydante des extraits

L'activité antioxydante *in vitro* des extraits des feuilles de *Ocimum gratissimum* a été évaluée par la méthode au DPPH. Cette méthode est basée sur le piégeage du radical DPPH' par l'ajout d'une espèce de radical ou un antioxydant qui décolore la solution de DPPH [8]. L'activité antioxydante est obtenue par détermination de la CI_{50} qui est la concentration des antioxydants nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH'. Elle est déterminée graphiquement. Les références utilisées sont la vitamine C et la quercétine. Les tests ont été effectués en duplicate.

3. Résultats et discussion

3.1. Tests de caractérisation chimique

Le tri-phytochimique réalisé à l'aide de tests chimiques standards a permis de mettre en évidence différentes familles de métabolites secondaires dans les feuilles de *Ocimum gratissimum* (Tableau 1). Les résultats du Tableau 1 montrent la présence de polyphénols, de flavonoïdes, d'alcaloïdes, d'indoles, d'anthocyanes et de stérols et terpènes dans la plante. Par ailleurs, les tanins, les glycosides cardiotoniques, les anthracénosides, les saponosides, les anthraquinones, les quinones et les leucoanthocyanes sont absents. Nos résultats sont conformes à ceux obtenus par N'guessan et al. (2009) [3] sur les feuilles de cette espèce. Les travaux de kpètèhoto et al. (2017) [4] indiquent la présence de tanins catéchiques, de tanins galliques et de leucoanthocyanes ; cela est contraire au résultat obtenu dans notre étude. Ces différences peuvent s'expliquer par les facteurs biogénétiques et environnementaux [4]. Les familles de composés détectés dans l'extrait OGFe pourraient justifier les nombreuses activités biologiques des feuilles de cette plante. En effet, divers extraits de cette plante ont montré des propriétés antioxydantes, antibactériennes, antifongiques et antiparasitaires [9-13]. Les phénols sont antioxydants, anti-inflammatoires, antiviraux et antiseptiques. Les plantes, en les produisant, cherchent à se prémunir contre les infections et les insectes phytophages [14].

Tableau 1 : Groupes chimiques caractérisés dans l'extrait OGFe

Métabolites secondaires		Résultat	
Stérols et terpènes		(+)	
Alcaloïdes		(+)	
Anthracénosides		(-)	
Saponosides		(-)	
Polyphénols	Polyphénols	(+)	
	Anthocyanes	(+)	
	Leucoanthocyanes	(-)	
	Flavonoïdes	(+)	
	Tanins	Tanins catéchiques	(-)
		Tanins galliques	(-)
Phlobatanins		(-)	
Indoles		(+)	
Glycosides cardiotoniques		(-)	
Anthraquinones		(-)	
Quinones		(-)	

NB : (+) Présence ; (-) Absence

Le fractionnement de l'extrait brut OGFe a conduit à quatre sous-extraits : hexane (OGFeHex), dichlorométhane (OGFeDCM), acétate d'éthyle (OGFeAE) et aqueux résiduel (OGFeR). L'objectif de l'étude étant d'extraire les composés phénoliques, des tests ont été réalisés en vue de déterminer d'une part leur présence, et d'autre part leur nature, dans les extraits (Tableau 2).

Tableau 2 : Constituants en composés phénoliques des extraits

Fractions	Tests		
	Polyphénols	Flavonoïdes	Anthocyanes
OGFe	(+)	(+)	(+)
OGFeHex	(-)	(-)	(-)
OGFeDCM	(+)	(+)	(-)
OGFeAcOEt	(+)	(+)	(+)
OGFeR	(+)	(+)	(+)

NB : (+) Présence ; (-) Absence

Le tableau 2 indique qu'à l'exception de l'extrait OGFeHex, les autres extraits (OGFe, OGFeDCM, OGFeAcOEt et OGFeR) contiennent des polyphénols. Les tests de caractérisation des flavonoïdes et des anthocyanes montrent leur présence dans les extraits OGFe, OGFeAcOEt et OGFeR. En outre, l'extrait OGFeDCM ne contient pas d'anthocyanes. Ces résultats pourraient s'expliquer par la polarité des extraits. En effet, les flavonoïdes et les anthocyanes étant des composés polaires, ils sont plus présents dans les extraits polaires. Cela est valable pour les composés phénoliques en général.

3.2. Caractéristiques physico-chimiques des composés isolés

D'après les résultats des tests de caractérisation chimique, les extraits OGFeDCM, OGFeAE et OGFeR renferment des composés phénoliques. Aussi, selon les profils chromatographiques obtenus avec ces extraits, l'extrait résiduel (OGFeR) présentait un profil chromatographique peu complexe. Il a donc été purifié pour donner les composés P1 (8 g) et P2 (12 mg). Le composé P1 est sous-forme de solide orangé et le composé P2 se présente sous-forme d'huile incolore. Les CCM réalisées dans différents systèmes de solvants (Tableau 3) ont donné une seule tache pour chacun des produits, ce qui indique leur pureté relative. Ces composés réagissent positivement au test au chlorure ferrique (FeCl_3), suggérant qu'ils sont des composés phénoliques. Les tests de caractérisation des alcaloïdes ont révélé que P1 est un alcaloïde. Le composé P1 est donc un alcaloïde avec une fonction phénol.

Ces résultats confirment que des composés phénoliques ont été extraits et isolés dans cette étude. Le fait que P1 et P2 soient respectivement solubles dans l'eau et l'acétone indique qu'ils sont fortement hydroxylés, probablement glycosylés.

Tableau 3 : Caractéristiques physico-chimiques des composés P1 et P2

	P1	P2
Masse (g)	8	0,012
Aspect	Solide orangé	Huile incolore
Solubilité	Eau	Acétone
Test des polyphénols	(+)	(+)
Test des alcaloïdes	(+)	(-)
R_f	AcOEt/EtOH (6 : 4) 0,6	Hex/MeOH (8 : 2) 0,7

3.3. Activité antioxydante

Pour mieux comparer les activités des extraits de la plante, les CI_{50} ont été déterminées et les courbes de progression des différentes CI_{50} tracées (Figure 1). Ainsi, l'extrait acétate d'éthyle (OGFeAcOEt) a donné la meilleure activité anti-radicalaire ($CI_{50} = 21 \mu\text{g/mL}$), viennent ensuite, respectivement l'extrait OGFeDCM ($CI_{50} = 31 \mu\text{g/mL}$) et l'extrait résiduel OGFeR ($CI_{50} = 58 \mu\text{g/mL}$). Enfin, l'extrait brut OGFe possède l'activité la plus basse ($CI_{50} = 185 \mu\text{g/mL}$). Ces activités sont relativement faibles, comparées à celles des deux molécules de référence, la vitamine C ($CI_{50} = 12,5 \mu\text{g/mL}$) et la quercétine ($CI_{50} = 3,13 \mu\text{g/mL}$).

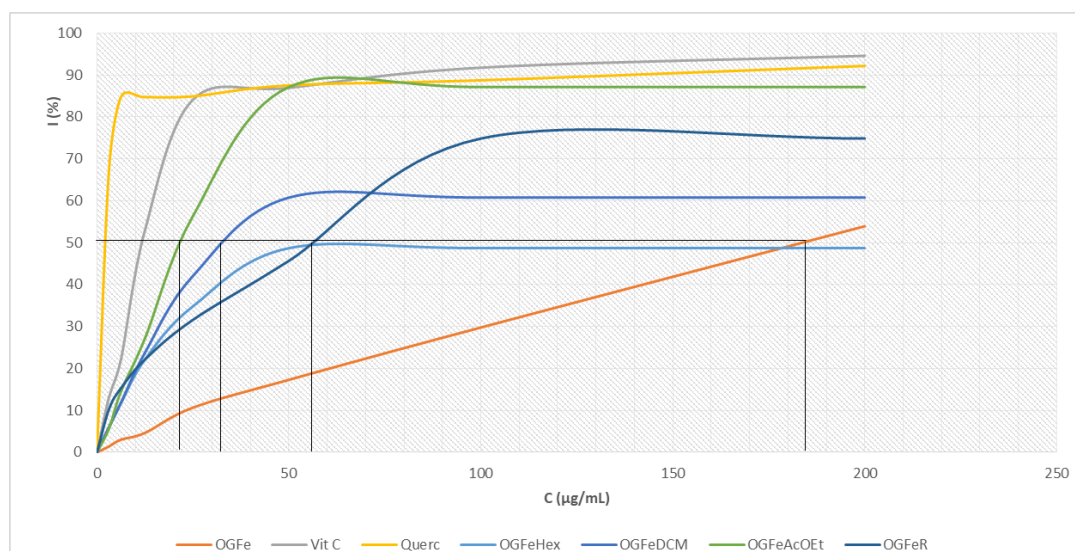


Figure 1 : Courbes d'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Ocimum gratissimum*

4. Conclusion

Cette étude réalisée sur les feuilles de *Ocimum gratissimum* avait pour but d'extraire et de purifier ses constituants phénoliques. Ainsi, le screening phytochimique réalisé avec les méthodes classiques de caractérisations chimiques, a permis de mettre en évidence la présence d'alcaloïdes, de polyphénols, d'anthocyanes, de flavonoïdes, d'indoles, de stérols et terpènes. Le test d'activité anti-oxydante réalisé sur les différents extraits de *O. gratissimum* a montré que l'extrait à l'acétate d'éthyle (OGFeAcOEt) et l'extrait au dichlorométhane (OGFeDCM) ont une activité importante tandis que l'extrait résiduel (OGFeR) a une activité anti-radicalaire faible. La combinaison des méthodes d'extraction (solide-liquide et liquide-liquide) et chromatographiques (CCM et CC) a permis d'isoler et purifier deux composés phénoliques (P1 et P2). Les résultats obtenus dans cette étude sont déterminants pour la simple raison que, les études phytochimiques réalisées à ce jour sont en majorité portées sur la composition en huiles essentielles de feuilles de *O. gratissimum*. L'isolement de ses constituants non volatiles, surtout les polyphénols, n'a pas encore été réalisé. Pour la suite, nous projetons élucider la structure des composés isolés grâce aux analyses spectrales telles que la résonance magnétique nucléaire (RMN), la spectrométrie de masse (SM), l'ultraviolet (UV) et l'infrarouge (IR). Aussi, nous envisageons fractionner et purifier les constituants des extraits OGFEDCM et OGFeAcOEt, en vue d'isoler les polyphénols qui y ont été détectés dans cette étude.

5. Bibliographie

- [1]. Adjanohoun, E.J. ; Ahyi, M.R.A. ; Aké Assi, L. ; Akpagana, K. ; Chibon, P. ; El-Had, A. ; Eymen, I. ; Goutote, E. ; Ginko, S. ; Hodouto, K.K. ; Hougnon, P. ; Keita, A. ; Kéoula, Y. ; Klouga-Ocloo, W.P. ; Lo, I. ; Siamevi, K. ; Taffame, K.K. ; Garba, M. ; Gassita, J.N. et Gbeassor, M. Médecine traditionnelle et pharmacopée: contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Togo. *SFE*, Agence de Coopération Culturelle et Technique, Paris (1986), 671 p.
- [2]. Onajobi, F.D. Smooth muscle contracting lipid-soluble principles in chromatographic fractions of *Ocimum gratissimum*. *J. Ethnopharmacol.* (1986), 18 (1), pp. 3-11.
- [3]. N'guessan, K. ; Kadja, B. ; Zirihi, G. ; Traoré, D. et Aké-Assi, L. Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Kroubo (Agboville, Côte d'Ivoire). *Sciences & Nature* (2009), 6, 1, pp.1-15.
- [4]. Kpètèhoto, W.H. ; Hessou, S. ; Dougnon, V.T. ; Johnson, R.C. ; Boni, G. ; Houéto, E.E. ; Assogba, F. ; Pognon, E. ; Loko, F. ; Boko, M. et Gbénou, J. Étude ethnobotanique, phytochimique et écotoxicologique de *Ocimum gratissimum* Linn (Lamiaceae) à Cotonou. *J. Appl. Biosci.* (2017), 109, pp.10609-10617.
- [5]. OMS. Renforcement du rôle de la médecine traditionnelle dans les systèmes de santé : une stratégie pour la région Africaine : Rapport du secrétariat. Comité régional de l'Afrique, 63^e session, Brazzaville (République du Congo), (2013), 39 p.
- [6]. Harborne, J.B. *Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis*. 3rd ed. London; New York: Chapman and Hall, (1998), 302 p.
- [7]. Munier, R. Caractérisation chimique des alcaloïdes. *Bull. Soc. Chim. Fr.* (1935), 35:1225.

- [8]. Krishnaiah, D.; Sarbatly, R. et Nithyanandam, R. A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food Bioprod. Process.* (2011), 89, pp. 217-233.
- [9]. Opalchenova, G. et Obreshkova, D. Comparative studies on the activity of basil - an essential oil from *Ocimum basilicum* L. - against multidrug resistant clinical isolates of the genera *Staphylococcus*, *Enterococcus* and *Pseudomonas* by using different test methods. *J. Microbiol. Meth.* (2003), 54, pp. 105-110.
- [10]. Abdullah, I.H. ; Farooq, A. ; Syed, T.H.S. et Roman, P. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chem.* (2008), 108, pp. 986-995.
- [11]. Koba, K.; Poutouli, P.W.; Raynaud, C.; Chaumont, J-P. et Sanda, K. Chemical composition and antimicrobial properties of different basil essential oils chemotypes from Togo. *Bangladesh J. Pharmacol.* (2009), 4, pp. 1-8.
- [12]. Bassolé, I.H.N. ; Lamien-Meda, A. ; Bayala, B. ; Tirogo, S. ; Franz, C. ; Novak, J. ; Nebié, R.C. et Dicko, M.H. Composition and Antimicrobial Activities of *Lippia multiflora* Moldenke, *Mentha x piperita* L. and *Ocimum basilicum* L. Essential Oils and Their Major Monoterpene Alcohols Alone and in Combination. *Molecules* (2010), 15, pp. 7825-7839.
- [13]. Runyoro, D.; Ngassapa, O.; Vagionas, K.; Aligiannis, N.; Graikou, K. et Chinou, I. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of four *Ocimum* species growing in Tanzania. *Food Chem.* (2010), 119, pp. 311-316.
- [14]. Attou, A. Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Ruta chalpensis* (Fidjel) de la région d'Ain Témouchent. Mémoire de Magister, Université d'Abou Bekr Belkaid Tlemcen (Algérie) (2011), 119 p.

PHYTOCHIMIE ET ACTIVITE D'ANONNA SENEGALENSIS CONTRE LE SYNDROME HEMORAGIQUE CAUSE PAR LE VENIN DE BITIS RHINOCEROS (VIPERIDAE) EN CÔTE D'IVOIRE.

Golly Koffi Julien^{a, c*}, Yapo-Crezoit Chiayé^a, Yobouet Dedrekwaku Camman Benoit^{a, d}, Akaffou Marc H^b, Siaka Sorho^c, Soro Yaya^c, Djaman Allico Joseph^d, Mireille Dosso^{a, b}

^aPôle de Biologie de l'Immunité, Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, 01 BP 490 Abidjan 01, Côte d'Ivoire

^bDépartement environnement et santé, Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, 01 BP 490 Abidjan 01, Côte d'Ivoire

^cLaboratoire des Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles, Institut National Polytechnique Félix HOUPHOUËT-BOIGNY, BP 1313 Yamoussoukro, Côte d'Ivoire

^dLaboratoire de Biotechnologies/pharmacologies des substances naturelles, Université Felix HOUPHOUËT BOIGNY, 01 BP V 34 Abidjan 01, Côte d'Ivoire

Les morsures de *Bitis Rhinoceros* provoquent en général un syndrome hémorragique chez les victimes. L'immunothérapie antivenimeuse demeure efficace. *Annona senegalensis* est utilisée en Côte d'Ivoire pour traiter des cas d'envenimations par les Viperidae. L'objectif de ce travail a été d'étudier la modulation de l'effet du venin de *Bitis rhinoceros* sur les paramètres de la coagulation par les feuilles d'*Annona senegalensis*. L'étude phytochimique de la plante a été réalisée suivie de celle de l'effet du venin sur trois paramètres de coagulation (TP, TCA, Fibrinogène) du sang de personnes saines en présence et en absence de l'extrait hydro-éthanolique. La phytochimie a mis en évidence la présence de saponines, de tanins, et des composés polyphénoliques dont les flavonoïdes, dans cette plante. L'étude de l'effet du venin a montré qu'à la concentration de 10^{-2} mg/mL le venin de *Bitis rhinoceros* modifie quelques paramètres de coagulation par la diminution de moitié du taux de prothrombine, l'augmentation du temps de coagulation. Il n'a aucun effet sur le taux de fibrinogène. L'effet de ce venin est inhibé par 1 mg/mL de l'extrait hydro-éthanoïque. Les feuilles d'*Annona senegalensis* contiennent des molécules qui pourraient neutraliser l'action du venin dans le trouble de la coagulation. Leur caractérisation s'avère très important.

Mots clés: *Bitis Rhinoceros*, *Annona senegalensis* ; coagulation ; phytochimie

PHYTOCHEMISTRY AND ACTIVITY OF ANONNA SENEGALENSIS AGAINST THE HEMORAGIC SYNDROME CAUSED BY THE VENOM OF BITIS RHINOCEROS (VIPERIDAE) IN CÔTE D'IVOIRE.

The bites of *Bitis Rhinoceros* generally cause a haemorrhage syndrome in the victims. Antivenom immunotherapy remains effective. *Annona senegalensis* is used in Côte d'Ivoire to treat cases of envenomation by Viperidae. The objective of this work was to study the modulation of the effect of *Bitis rhinoceros* venom on the parameters of coagulation by the leaves of *Annona senegalensis*. The phytochemical study of the plant was carried out followed by that of the effect of the venom on three coagulation parameters (TP, TCA, Fibrinogen) of the blood of healthy people in the presence and absence of the hydro-ethanolic extract. Phytochemistry has revealed the presence of saponins, tannins, and polyphenolic compounds including flavonoids in this plant. The study of the effect of venom has shown that at a concentration of 10^{-2} mg/mL the *Bitis rhinoceros* venom modifies some coagulation parameters by halving the prothrombin rate and increasing coagulation time. It has no effect on fibrinogen levels. The effect of this venom is inhibited by 1 mg/mL of the hydro-ethanoic extract. The leaves of *Annona senegalensis* contain molecules that could neutralize the action of the venom in the bleeding disorder. Their characterization is very important.

Keywords: *Bitis Rhinoceros*, *Annona senegalensis*; clotting; phytochemistry

Introduction

Parmi les maladies tropicales, les morsures de serpent sont reconnues comme problème majeur et considérées comme l'une des maladies négligées par l'Organisation mondiale de la santé [1]. Le nombre annuel de morsures de serpents dépasse 5 millions et le nombre de décès consécutif aux morsures de serpents est de 125 000 [2]. A ces chiffres, il faut ajouter 400 000 patients qui gardent des séquelles fonctionnelles graves : amputations, insuffisance rénale, séquelles neurologiques [3]. Les envenimations ophidiennes en Afrique représentent un problème de santé publique, par leur fréquence et leur gravité, mais également du fait des difficultés de leur prise en charge. Il y aurait par an, en Afrique plus d'un million de morsures de serpents suivies de 500 000 envenimations dont 20 à 30% graves, avec près de 25 000 décès. Dans certains pays africains, les morsures de serpents occasionnent plus d'un quart des décès accidentels chez l'adulte [4]. Cependant, en Afrique Noire, seulement 15% des victimes sont hospitalisées et au plus 10% de celles qui le nécessitent bénéficient d'une immunothérapie

antivenimeuse. Les vipérideas sont responsables de 90% des envenimations ophidiennes en Afrique tropicale, notamment en savane et dans le Sahel[5]. Parmi les espèces retrouvées on note une prédominance des *Bitis* et des *Echis*. Les *Bitis* occasionnent en généralement des morsures sévères [6] qui conduisent à la survenue rapide du syndrome hémorragique provoquée par l'envenimation. Ce syndrome hémorragique est dû à la dégradation des paramètres de l'hémostase ce qui conduit à la perte de la capacité de coagulation du sang de l'individu mordu. Cette envenimation nécessite un traitement rapide car elle a pour conséquence une amputation dû à une nécrose du membre mordu, et voir même la mort de l'individu. Malheureusement, le coût relativement élevé de la sérothérapie antivenimeuse rend le recours à ce traitement, inaccessible à la majeure partie sinon à la quasi totalité de la population africaine.

La richesse végétale est l'un des meilleurs moyens pour pallier à cette problématique car en médecine traditionnelle, les plantes sont très utilisées dans la formulation des recettes médicinales depuis des siècles [7]. L'usage de ces plantes dans les pays en développement connaît une importance sanitaire et économique croissante [8]. Un bon nombre de plantes ont été signalées comme ayant un bon potentiel pour le traitement des morsures de serpent. En Côte d'Ivoire, *Annona senegalensis* est l'une des plantes utilisées contre les morsures de vipéridés en milieu traditionnel. Pour justifier scientifiquement son usage thérapeutique en milieu traditionnel, cette étude a été menée. L'objectif de ce travail a été d'étudier la modulation de l'effet du venin de *Bitis rhinoceros* sur les paramètres de la coagulation par l'extrait hydro-éthanolique des feuilles d'*Annona senegalensis*.

Matériel et méthodes

1-Matériel

Le matériel utilisé dans cette étude est constitué:

- des feuilles d'*A. senegalensis*, qui ont été récoltées dans la région de Yamoussoukro, au centre de la Côte d'Ivoire. Ces feuilles ont été séchées à l'abri du soleil pendant deux semaines puis pulvérisées dans un broyeur électrique. Les poudres issues du tamisage à l'aide d'un tamis de 0,40 µm de diamètre sont conditionnées dans des sachets en polyéthylène puis conservées à 4°C jusqu'à leur utilisation ultérieure.
- de venin du serpent *B. arietans* (Viperidea) fourni par l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire ;
- de sang total de personnes saines, des deux sexes, âgées d'au moins 18 ans n'ayant pas été mordues par un serpent les six derniers mois.
- d'un certain nombre de solvants : l'éthanol, le méthanol, l'acétate d'éthyle, l'hexane, le dichlorométhane .

2- METHODES

2-2-Préparation de l'extrait éthanolique 70%

L'extraction a été réalisée selon la méthode de [9]Ackah *et al.*, 2008. En effet, 100 grammes de poudre végétale ont été dissout dans un mélange de 1000 mL de solvant constitué de 700 mL d'éthanol 96° et 300 mL d'eau distillée, puis homogénéisés dans un Blender à la température ambiante (25-30°C). L'homogénat obtenu a été d'abord essoré dans un carré de tissu blanc. Ensuite, doublement filtré sur du coton hydrophile et une fois sur du papier whatman 3 mm. Le filtrat obtenu a été évaporé à l'étuve à 50 °C pendant 48h. On obtient ainsi l'extrait brut hydro-éthanolique 70%. La masse d'extrait obtenu a été stockée dans des bouteilles stériles, propres, secs puis conservées à 4 °C pour une utilisation ultérieure.

2-3-Analyse Tri phytochimique des métabolites secondaires

L'analyse tri phytochimique est une méthode de caractérisation des principaux composés phytochimiques de la plante. Cette méthode a été réalisée sur l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de *Annona senegalensis*, selon le protocole de [10] Nemlin et Brunel (1995)

2-4-Test antihémorragique *in vitro*

2-4-1- Prélèvement et conditionnement des échantillons de sang

Le prélèvement a été effectué au pli du coude dans des tubes à bouchon bleus contenant du citrate de sodium (anticoagulant), au sein de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire à Cocody plus précisément à l'URAP (Unité de Réception et d'Accueil de Prélèvement). Ce sang prélevé est laissé reposer pendant dix (10) minutes puis centrifugé à 3200 tours/min pendant cinq (5) minutes. Le plasma est par la suite recueilli dans des tubes à hémolyse pour les tests ultérieurs.

2-4-2-Tests d'hémostase ou de coagulation des sujets prélevés

La réalisation du test d'hémostase a concerné trois paramètres à savoir : le dosage du taux de prothrombine (TP), la recherche du temps de Céphaline activée (TCA) et le dosage du taux de fibrinogène.

2-4-3-Test de l'effet du venin sur les paramètres de l'hémostase

La réalisation du test a nécessité la préparation de quatre concentrations ($2 \cdot 10^{-1}$ mg/mL, 10^{-1} mg/mL, $2 \cdot 10^{-2}$ mg/mL, 10^{-2} mg/mL) de la solution de venin dans de l'eau physiologique. Toutes ces solutions ont été ensuite conservées à 4°C.

Le test a été réalisé selon la méthode de [11]Qi *et al.*, 2012. Il consiste à mettre en contact le venin et le plasma avant de doser les paramètres de coagulation de ce plasma.

2-4-4-Test de l'effet de l'extrait éthanolique 70% sur l'activité du venin vis-à-vis des paramètres de l'hémostase

Le test a été fait à partir deux solutions d'extrait de concentration 20mg/mL et 10mg/mL préparée avec de l'eau physiologique 0,9%.

Selon la même méthode de [11]Qi *et al.*, 2012, ce test a consisté à mettre d'abord en contact le venin et l'extrait pendant un temps, ensuite de les mélanger avec le plasma avant de doser les paramètres de coagulation.

2-5- Analyses statistiques

Les analyses statistiques des résultats expérimentaux ont été réalisées en utilisant le logiciel Graph PadPrism 8.4.3 (Microsoft, USA). Les valeurs sont présentées sous forme de moyenne \pm erreur standard. Les données ont été évaluées par la méthode d'analyse d'ANOVA one-way suivie du test de comparaison multiple de Tukey au seuil de 5% pour apprécier la signification des différences observées. Si $P < 0,05$ la différence entre les valeurs est considérée comme significative et si $P > 0,05$ cette différence n'est pas significative. En outre, les représentations graphiques ont été effectuées grâce au même logiciel.

I- Résultats

1- Composés phytochimique de l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de *A. senegalensis*

Le screening phytochimique a permis de mettre en évidence une variété de métabolites secondaires dans l'extrait hydro-éthanolique de feuilles. Les polyphénols, les flavonoïdes, les saponines et les tanins catéchines ont été révélés (**Tableau I**).

2- Valeurs des paramètres d'hémostase (TP, TCA et FIB) du plasma dans les différentes solutions obtenues.

Les valeurs des trois paramètres d'hémostase (**TP, TCA et FIB**) des différentes solutions sont résumés par les histogrammes représentées sur les **Figures 1; 2 et 3**.

La figure 1 qui présente l'histogramme du taux de prothrombine (TP) révèle que les valeurs normales de TP des hommes et des femmes sont respectivement de $101,2 \pm 3,16$ % et de $109,03 \pm 3,37$ %. L'extrait éthanolique 70% à 1 mg/mL ne modifie pas la valeur normale du TP des deux sexes. En présence du venin 10^{-3} mg/mL les valeurs TP sont pratiquement dans l'intervalle des valeurs normales de TP, alors qu'à la concentration de 10^{-2} mg/mL de venin, les TP sont réduits jusqu'en dessous de la moitié des valeurs de TP des personnes testées. Le venin pourrait dégrader la Prothrombine présente dans le plasma des hommes et des femmes à la concentration de 10^{-2} mg/mL. Mise en contacte avec l'extrait éthanolique 70% à 1mg/mL pendant 15min, le venin n'a eu aucun effet sur la Prothrombine car elle n'a pas modifié les valeurs normales de TP. L'extrait éthanolique 70% inhiberait l'activité qu'a le venin dans la dégradation de la prothrombine.

Le Temps de Céphanie Activée (TCA) est résumé sur la figure 2. Cette figure indique que le temps de céphaline activée normal de la femme et de l'homme est respectivement de $27,20 \pm 0,44$ s et de $23,70 \pm 0,70$ s. L'extrait éthanolique 70% à 1 mg/mL n'a pas d'effet sur le TCA car il ne modifie pas la valeur normale du TCA des deux sexes. En présence du venin à 10^{-2} mg/mL les TCA des personnes testées double. Le venin pourrait dégrader la protéine responsable de ce paramètre présente dans le serum des hommes et des femmes à la concentration de 10^{-2} mg/mL. Mise en contacte avec l'extrait éthanolique 70% à 1mg/mL pendant 15min, le venin n'a eu aucun effet car elle n'a pas modifié les valeurs normales de TCA. L'extrait éthanolique 70% inhiberait l'activité qu'a le venin dans la dégradation de la protéine responsable de ce paramètre.

La figure 3 qui traduit le taux de fibrinogènes du sérum, révèle que ce taux est de $3,03 \pm 0,06$ g/L chez la femme et de $1,73 \pm 0,29$ g/L chez l'homme. Ces valeurs de taux de fibrinogènes sont pratiquement

restées identiques en présence de tous les produits testés. Le venin à 10^{-2} et 10^{-3} mg/mL et l'extrait à 1 mg/mL n'ont pas d'effet sur les fibrinogènes car ils ne modifient pas la valeur normale de ce paramètre.

Conclusion

L'objectif de ce travail a été d'étudier la modulation de l'effet du venin de *Bitis rhinoceros* sur les paramètres de la coagulation par les feuilles d'*Annona senegalensis*. La phytochimie a mis en évidence la présence de saponines, de tanins, et des composés polyphénoliques dont les flavonoïdes, dans cette plante. L'étude de l'effet du venin a montré qu'à la concentration de 10^{-2} mg/mL le venin de *Bitis rhinoceros* diminue de moitié le taux de prothrombine et augmentation le temps de céphaline activée. Il n'a aucun effet sur le taux de fibrinogène. L'effet de ce venin est inhibé par 1 mg/mL de l'extrait hydro-éthanoïque. Les feuilles d'*Annona senegalensis* contiennent des molécules qui pourraient neutraliser l'action du venin dans le trouble de la coagulation. Leur caractérisation et une étude *in vivo* sur ces même paramètre s'avère très important.

References

- 1-Organisation Mondiale de la Santé, 2017
- 2-Chippaux J.P., Goyffon M. 2000- Epidémiologie des envenimements dans le monde in G. Mion, M. Goyffon ; les envenimations graves ; Paris : Arnette : 1-7.
- 3 Pollet L., Ponchel C., Carpentier J.P. 2000 – Envenimation cobraïque in G Mion, M. Goyffon ; les envenimations graves ; Paris : Arnette, 53-64.
- 4-Einterz E., Bates M. 2003 – Snakebite in northern Cameroon : 134 victims of bites by the sawscaled or carped viper, *Echis ocellatus* ; *Trams R Soc Trop Med Hyg* ; 97 : 693-696.
- 5-Chippaux JP, Amadi-Eddine S & Fagot P. 1999. Diagnostic et surveillance des hémorragies dues aux envenimations vipérines en savane africaine. *Bull Soc Pathol Exot.*; 92 (2): 109-113.
- 6-Chippaux J.P., 2002 - Venins de serpent et envenimations. IRD, Paris, , 288 p.
- 7-Ahossi P, Dougnon TJ, Kiki P, Houessionon.J.2014. Synthèse des activités biologiques et de l'utilisation de *Tridax procumbens* en production animale et en médecine traditionnelle. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 8(4): 1476-1884.
- 8-Tabuti JR, Lye KA, Dhillion SS. 2003. Traditional medicine in Bulamogi county, Uganda: Its practitioners, users and viability, use and administration. *J. Ethnopharm*, 85: 119-129.
- 9- Ackah J. A. A. B., Kra A. K. M., Zirihi G. N. & Guédé-Guina F., 2008.- Evaluation de l'activité antifongique de tekam, un extrait de plante, sur la croissance *in vitro* de *candida albicans*. *Revue Ivoirienne Sciences Technologiques*, 11: 119-129
- 10-Nemlin J. Brunel J.F., 1995- Fascicule de Travaux Pratiques de Matière Médicale (3eme année). Université Nationale de Côte d'Ivoire. Faculté de Pharmacie. Département de Pharmacognosie. Laboratoire de Phytologie, 47p.
- 11-Qi X. Mao W. Chen Y. Chen y. Zhao C. Li N. Wang C. Yan M. Lin C. Chan J. (2012). Chemical characteristics of an anticoagulant active sulfated polysaccharide from *Enteromorpha clathrata*. *Carbohydrate polymers*, pp 1804- 1810

Évaluation in vitro de l'activité antioxydante des extraits aqueux et éthanolique des feuilles de *Myrianthus holstii* (Cecropiaceae)

Yeo Sounta Oumar^{1,2*}, Konan N'dri seraphin¹, Silué Kalamourou¹, Mawa Traoré¹, Doumbia Idrissa^{1,2}, Djaman Allico Joseph^{1,3} et Coulibaly Adama²

¹ Université de Man, BP 20 Man, Côte d'Ivoire.

² Laboratoire de Pharmacodynamie Biochimique, Département de Biosciences, Université Félix Houphouët-Boigny, BP 582, Abidjan 22, Côte d'Ivoire

³ Laboratoire de Biochimie de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, BP 490, Abidjan 01, Côte d'Ivoire

Résumé: Cette étude est réalisée pour contribuer à la recherche de nouvelles molécules antioxydantes. Il s'agit d'évaluer l'activité antioxydante de *Myrianthus holstii* (Cecropiaceae), une plante médicinale de l'Ouest de la Côte d'Ivoire (Man). Les rendements d'extraction de l'extrait éthanolique (EE) et de l'extrait aqueux (EA) sont respectivement de 12,6% et 8,03%. La détermination de la teneur en phénols totaux par la méthode colorimétrique a donné les résultats suivants: EAfe (50,67 ± 2,08 mg GAE/g d'extraits) et EEfe (136,7 ± 2,33 mg GAE/g d'extraits). Le dosage des flavonoïdes par la méthode des chlorures d'aluminium AlCl₃ a donné les résultats suivants: EAfe (71,33 ± 1,45 mg QE/g d'extraits) et EEfe (490 ± 17,32 mg QE/g d'extraits). Les résultats obtenus indiquent que l'extrait éthanolique contient plus de composés polyphénoliques que l'extrait aqueux. L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits a été réalisée selon deux méthodes: le piégeage des radicaux libres par le DPPH et la mesure du pouvoir réducteur (FRAP). Les propriétés antioxydantes de l'extrait éthanolique sont également supérieures à celles de l'extrait aqueux et bien proche de celle de la vitamine C. Cette analyse pourrait représenter un atout supplémentaire dans la prise en charge des pathologies liées au stress oxydatif.

Mots-clés: Activité antioxydante ; *Myrianthus holstii* ; feuilles

Abstrat: This study is carried out to contribute to the search for new antioxidant molecules. This is to evaluate the antioxidant activity of *Myrianthus holstii* (Cecropiaceae), a medicinal plant from western Côte d'Ivoire (Man). The extraction yields of the ethanolic extract (EE) and of the aqueous extract (EA) are respectively 12.6% and 8.03%. The determination of the total phenol content by the colorimetric method gave the following results: EAfe (50.67 ± 2.08 mg GAE/g of extracts) and EEfe (136.7 ± 2.33 mg GAE/g of 'excerpts). The determination of flavonoids by the method of aluminum chlorides AlCl₃ gave the following results: EAfe (71.33 ± 1.45 mg QE/g of extracts) and EEfe (490 ± 17.32 mg QE/g of extracts). The results obtained indicate that the ethanolic extract contains more polyphenolic compounds than the aqueous extract. The evaluation of the antioxidant activity of the extracts was carried out according to two methods: the trapping of free radicals by DPPH and the measurement of the reducer (FRAP). The antioxidant properties of the ethanolic extract are also superior to those of the aqueous extract and very close to those of vitamin C. This analysis could represent an additional advantage in the management of pathologies linked to oxidative stress.

Keywords: Antioxidant Activity; *Myrianthus holstii*; leaves

1. Introduction

Depuis longtemps, et malgré le progrès scientifique, la médecine traditionnelle demeure le recours principal des populations afin de traiter leurs problèmes de santé. Selon l'organisation mondiale de la santé, environ 80% des individus dépendent de la médecine traditionnelle dans les soins primaires dans la vie quotidienne [1]. Actuellement, la plupart des maladies sont causées par le stress oxydant, qui suscite la recherche de nouveaux remèdes antioxydants. Il provoque des dommages importants qui sont des accélérations du vieillissement cellulaire. Ce vieillissement aboutit à des pathologies graves telles que les maladies cardiovasculaires et neuro dégénératives, le cancer, le diabète, le syndrome métabolique et les maladies digestives [2]. En effet, les plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'avoir une diversité structurale et qui possèdent un très large éventail d'activités biologiques. Aussi, l'évaluation de ces activités demeure une tâche très intéressante qui peut faire l'intérêt de nombreuses études [3]. Ainsi, un grand nombre d'études scientifiques ont été menées pour découvrir les propriétés fonctionnelles des composés d'origine végétale, antioxydants ou autres, qui pourraient être efficace pour la santé [4]. Cependant, l'utilisation des molécules antioxydantes synthétiques disponibles est, actuellement, remise en cause en raison des risques potentiels pour la santé et de la toxicité qu'elles sont capables de provoquer [5, 6]. C'est pourquoi, l'accent est, de plus en plus, mis sur la recherche de nouvelles sources

d'antioxydants dont les plantes médicinales [7,8]. De ce fait, de nombreuses études ont montré que ces dernières possèdent des propriétés antioxydantes [9,10]. Ainsi, notre travail s'inscrit dans le cadre de la recherche des antioxydants naturels en dosant des composés phénoliques et en évaluant l'activité antioxydante des extraits aqueux et éthanolique des feuilles de *Myrianthus holstii*, une plante utilisée en médecine traditionnelle dans l'Ouest de la Côte d'Ivoire. Aucune étude scientifique n'a, jusqu'ici, été menée sur cette partie de la plante dans cette région. Les résultats pourraient permettre une valorisation de cette espèce en médecine traditionnelle en Côte d'Ivoire.

2. Matériel Et Méthodes

2.1. Matériel végétal

Les feuilles de *Myrianthus holstii* (Cecropiaceae), récoltées en octobre 2018 à Kassiapleu près de Man (ouest de la Côte d'Ivoire) ont été identifiées par le Centre National de Fleuristerie de l'Université Félix Houphouët Boigny (Cocody-Abidjan). Un spécimen de la plante a été déposé dans l'herbier de ce Centre.

2.2. Préparation de l'extrait aqueux

La poudre de feuilles de *Myrianthus holstii* (100 g) a été macérée pendant 48 heures dans 1L d'eau distillée [11]. Le macérat a été essoré dans un carré de tissu stérile, filtré successivement sur coton et un pli sur papier filtre (Papier Whatman® 2 mm). Le filtrat a été séché lentement dans l'étuve à 50°C. La poudre obtenue a été conservée dans un bocal hermétiquement fermé et réfrigérée à 4°C [12].

2.3. Préparation de l'extrait éthanolique à 70 %

Elle a été réalisée selon la méthode 11 modifiée. Une masse de 20 g de poudre de plante a été ajoutée dans 100 mL d'éthanol à 70 % et soumise à macération pendant 72 heures. Le macérat a été traité selon le même mode opératoire que l'extrait aqueux

2.4. Teneur en phénols totaux

La teneur phénolique totale de l'extrait a été déterminée séparément en utilisant la méthode de [13, 14]. La courbe d'étalonnage a été préparée en mélangeant une solution méthanolique d'acide gallique (1 mL ; 0-100 g/mL) avec 5 mL de réactif de Folin-Ciocalteu et du sodium carbonate (4 ml, 1 M). Nous avons mesuré l'absorbance à 765 nm et tracé la courbe d'étalonnage. 1 mL d'extrait (100 g/mL) a également été mélangé avec les réactifs ci-dessus et après 15 min, l'absorbance a été mesurée pour déterminer le contenu phénolique total de la plante. Les expérimentations ont été réalisées en triple. Les valeurs de phénol total sont exprimées en termes d'équivalent d'acide gallique (mg GAE/g d'extrait), qui est un composé de référence commun.

2.5 Teneur en flavonoïdes

La teneur totale en flavonoïdes a été analysée par la méthode au chlorure d'aluminium [15, 16]. Chaque extrait de plante (0,5 mL de 1 : 100 µg/mL) a été mélangé avec 1,5 mL de méthanol, 0,1 mL d'AlCl₃ (10 %), 0,1 mL d'acétate de potassium 1M et 2,8 mL d'eau distillée. Le mélange a été laissé au repos pendant 30 min à température ambiante (25°C) et l'absorbance a été mesurée à 415 nm avec un spectrophotomètre UV/Visible Perkin Elmer à double faisceau (USA). La courbe d'étalonnage a été préparée en préparant des solutions de quercétine à des concentrations allant de 0 à 100 µg/mL dans du méthanol. Les teneurs totales en flavonoïdes ont été exprimées en mg d'équivalents de quercétine (QE)/g d'extrait. Les échantillons ont été analysés en triple.

2.6 Activité antioxydante

2.6.1 Capacité de chélation

La capacité de chélation de Fe²⁺ a été déterminée selon la méthode de [17, 18]. Fe²⁺ a été suivi en mesurant la formation de complexe fer ferreux-ferrozine à 562 nm. Différentes concentrations d'extrait (1 ml) dans 3,7 ml de méthanol ont été mélangées avec du FeCl₂ (0,1 ml, 2 mM) et de la ferrozine (0,2 ml, 5 mM). Le mélange résultant a été secoué et laissé au repos pendant 10 min à température ambiante. L'EDTA a été utilisé comme contrôle standard. L'absorbance de la solution résultante a été mesurée à 562 nm. La capacité à chélater le fer ferreux a été calculée à l'aide de l'équation suivante :

Effet chélateur (%) = [(A₀ - A₁) / A₀] X 100 ;

A₀ était l'absorbance du témoin (contenant tous les réactifs à l'exception du composé à tester) et A₁, l'absorbance en présence de l'échantillon d'extrait et de l'étalon.

2.6.2 Activité de piégeage des radicaux libres

Les capacités de don d'atomes d'hydrogène ou d'électrons des composés ont été mesurées à partir de la décoloration de la solution de méthanol de couleur violette de 2,2-diphényl-1-picryl hydrazyl (DPPH). Ce dosage spectrophotométrie utilise le radical libre stable DPPH comme réactif [19]. Différentes concentrations de chaque extrait ont été ajoutées, à volume égal, à une solution méthanolique de DPPH (100 µL). Après 30 min à température ambiante, l'absorbance a été enregistrée à 517 nm. Le test a été répété trois fois. La vitamine C a été utilisée comme contrôle standard. L'effet de piégeage des radicaux DPPH a été calculé en pourcentage d'inhibition (I %) en utilisant la formule suivante : $I \% = (A_{\text{Blanc}} - A_{\text{Echantillon}} / A_{\text{Blanc}}) \times 100$; Un blanc est l'absorbance de la réaction de contrôle (contenant tous les réactifs sauf le composé à tester) et un échantillon est l'absorbance du composé à tester. Les valeurs d'inhibition ont été calculées pour les concentrations de l'extrait. Les valeurs IC₅₀ indiquent la concentration de l'échantillon, qui est nécessaire pour piéger 50 % des radicaux libres DPPH. Produits chimiques Réactifs Tous les produits chimiques utilisés étaient de qualité analytique. Méthanol, chlorure d'aluminium, acétate de potassium, 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH), chlorure ferreux, ferrozine, ferricyanure de potassium, réactif de Folin-ciocalteu, étalons tels que l'acide ascorbique, l'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA), l'acide gallique, la quercétine tous de Sigma Chemicals Co. (St. Louis, MO, USA).

2.7 Analyses statistiques

L'analyse statistique a été effectuée par le logiciel statistique Graph Pad Prism 6. Les résultats sont exprimés en moyenne ± SD et analysés par les tests ANOVA et Tukey avec détermination univariée du taux de signification avec $P \leq 0,05$ considéré comme statistiquement significatif.

3 Résultats Et Discussion

3.1 Teneur en phénols totaux et en flavonoïdes extraits de feuilles de *Myrianthus holstii*

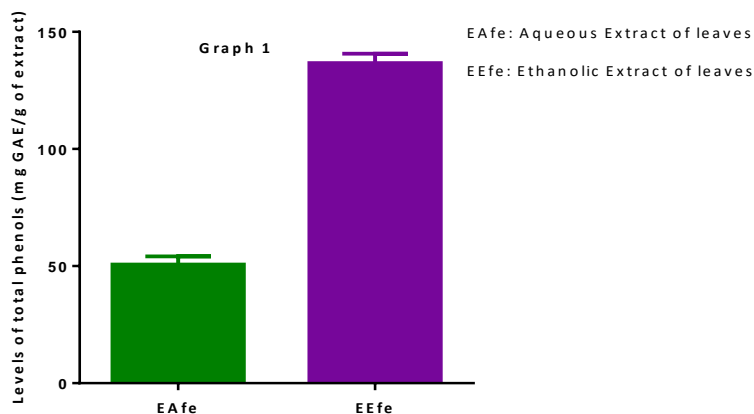
Les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes totaux des extraits d'écorce de *Myrianthus holstii* sont déterminées à partir de la droite d'étalonnage $y = 0,004 x + 0,00$; $R^2 = 0,998$ et $y = 0,037 x + 0,00$; $R^2 = 0,997$ tracé en utilisant l'étalon comme l'acide gallique et la quercétine, respectivement.

3.2 Teneur totale en phénols et flavonoïdes

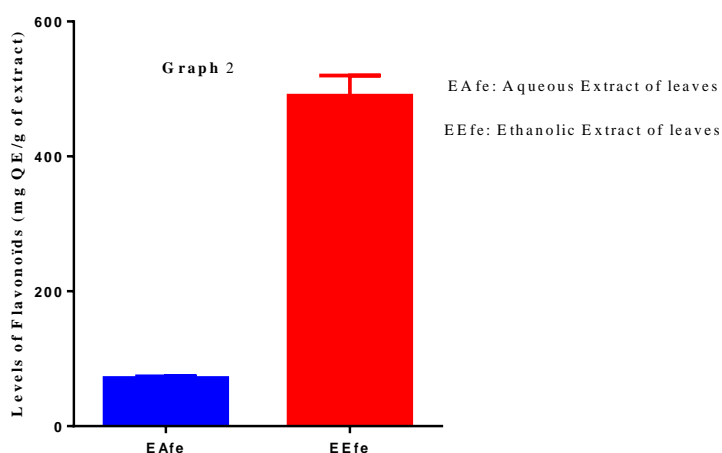
La teneur totale en phénol des extraits de *M. holstii* a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage en utilisant l'acide gallique comme polyphénol de référence. Les résultats obtenus sont exprimés en milligramme équivalent acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g extrait).

La méthode Folin-ciocalteu à partir de l'équation de la droite de régression ($y = 0,004 + 0,00$; $r^2 = 0,998$) de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique (0-0,5mg/mL), montre la teneur de l'extrait éthanolique des feuilles (EEfe) de *M. holstii* avec une valeur de $136,7 \pm 2,33$ mg GAE/g d'extrait est supérieur à l'extrait aqueux de feuilles (EAfe) qui a une valeur de $50,67 \pm 2,08$ mg GAE/g de matière sèche.

Les valeurs obtenues sont supérieures à celles obtenues par [20] dans les feuilles de *Myrtus communis* var. *italica* (33.67 mg GAE/g), de même que celles de onze plantes médicinales dont *Artemisia campestris* au niveau de la partie aérienne avec l'extrait éthanolique 70% [21]. Par contre, celles des feuilles de *Myrianthus holstii* sont inférieures aux teneurs obtenues chez les feuilles de *Cassia sieberiana* avec 276.62 mg GAE/ g [22]. Les résultats du dosage des phénols totaux ont montré que l'extrait éthanolique de la plante est riche en ces composés. Cette différence de teneurs peut s'expliquer par les conditions environnementales, climatiques et de période de collecte mais aussi par des facteurs génétiques et les conditions expérimentales.



Graph 1: Levels of total Phenols of Aqueous and Ethanolic Extracts of *Mynanthus holstii* Leaves (mg GAE/g of extract) (Mean \pm SD of tree trial)



Graph-2: Levels of Flavonoids of Aqueous and Ethanolic Extracts of *Mynanthus holstii* Leaves (mg QE/g of extract) (Mean \pm SD of tree trial)

3.3 Activité antioxydante

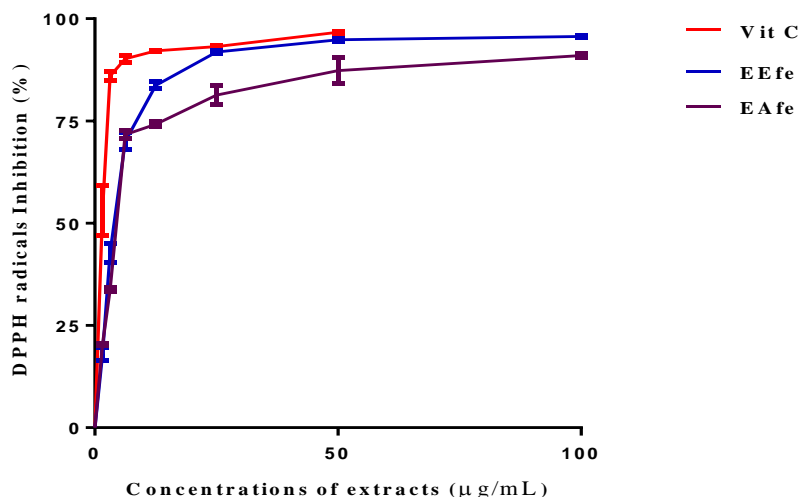
Pour l'activité antioxydante, les antioxydants réduisent et décolorent le radical DPPH, en un composé jaune diphényl picryl hydrazine, l'étendue de la réaction dépendra de la capacité des antioxydants à donner de l'hydrogène [23]. Les résultats sont exprimés en pourcentage de l'activité antiradicalaire et exprimé à l'aide du paramètre IC50, qui est défini comme la concentration du substrat qui provoque une perte de 50 % de l'activité DPPH [24]. Les mesures du pouvoir radicalaire de *M. holstii* révèlent que l'EEfe est plus actif avec une CI50 de l'ordre de $2,30 \pm 0,12 \mu\text{g/mL}$ et l'EAfe a l'activité anti-radicalaire la plus faible avec une CI50 = $4,40 \pm 0,60 \mu\text{g/mL}$ (Graphique 3). L'EEfe est proche de la Vitamine C utilisée comme molécule de référence qui a une IC50 de l'ordre de $01,25 \pm 0,02 \mu\text{g/mL}$.

De plus, à $100 \mu\text{g/mL}$, les extraits EAfe et EEfe ont respectivement 91% et 95% d'inhibition du radical DPPH.

Nos valeurs sont comparables à celles de [25] qui ont travaillé sur les racines de *Cochlospermum planchonii* et ont trouvé une valeur de $1.83 \pm 0.74 \mu\text{g/mL}$ avec l'éthanol 96%.

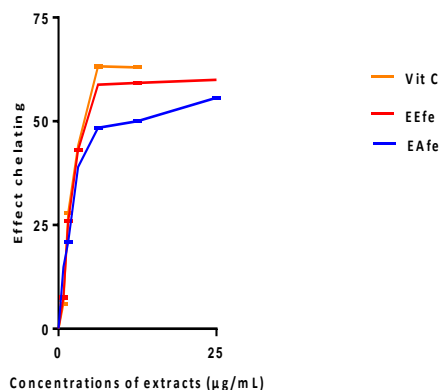
Des études antérieures ont confirmé que les composés phénoliques sont les principaux constituants antioxydants dans les plantes médicinales, les légumes, les fruits et les épices. Les composés phénoliques peuvent manifester un fort pouvoir antioxydant *in vitro*, ils piègent directement les espèces réactives d'oxygène [26]. Selon, [27] les polyphénols semblent être des donateurs efficaces d'hydrogène au radical DPPH, en raison de leur chimie structurale idéale.

Aussi, les antioxydants dans un mélange font que l'activité antioxydante dépend non seulement de la concentration, mais également de la structure et de la nature des antioxydants [28]. Il a été prouvé que les composés phénoliques et plus particulièrement les flavonoïdes sont principalement responsables de l'effet scavenger des radicaux libres [29, 30].



Graphique-3 : Evolution de l'Antiradicalaire des Extraits Aqueux et Ethanoliques de Feuilles de *Myrianthus holstii*

L'activité chélatrice des extraits aqueux et éthanolique de feuilles de *M. holstii* a révélé que l'EEfe avec une $CI_{50} = 4,50 \pm 0,22 \mu\text{g/mL}$ est la plus active et l'EAfe a l'activité anti-radicalaire la plus faible avec une $CI_{50} = 12,50 \pm 0,75 \mu\text{g/mL}$ (Graphique 4). De plus, notre EEfe est proche de la vitamine C utilisée comme molécule standard avec une CI_{50} de $4,08 \pm 0,01 \mu\text{g/mL}$. La valeur d' CI_{50} obtenue avec la vitamine C est très faible ($04,08 \pm 0,01 \mu\text{g/mL}$), reflétant son fort effet chélateur, cette valeur est très proche de l' IC_{50} de $5,6 \mu\text{g/mL}$ rapportée par [31]. Dans une étude menée sur des extraits de quatorze variétés d'orge, [32] ont mis en évidence l'existence d'une corrélation très faible et insignifiante ($r = 0,041$, $p \leq 0,05$) entre l'activité chélatrice de ces extraits et leur teneur en composés phénoliques. De plus, la capacité de chélation d'un composé phénolique dépend de la disponibilité d'un certain nombre de groupes fonctionnels convenablement orientés [33]. Ainsi, un échantillon riche en composés phénoliques ne pourrait pas chélater les métaux de transition si ses polyphénols ne possèdent pas les groupes fonctionnels nécessaires à la activité chélatrice.



Graph-4: Chelating Power of Aqueous Extracts and Ethanolic of *Myrianthus holstii* Leaves

4 Conclusion

Ce travail avait pour objectif de déterminer la teneur en composés phénoliques et d'évaluer le pouvoir antioxydant des feuilles de *M. holstii*, une plante médicinale utilisée en médecine traditionnelle dans l'Ouest de la Côte d'Ivoire. Les extraits de cette étude obtenus par macération avec différents solvants à savoir l'éthanol et l'eau distillée. Sur la base des résultats obtenus, le dosage des composés phénoliques contenus dans les deux extraits a révélé une teneur élevée dans l'extrait éthanolique. De même, l'activité antioxydante de l'extrait éthanolique était supérieure à celle de l'extrait aqueux et même proche de la

vitamine C. Cette étude montre que les feuilles de *Myrianthus holstii* peuvent être proposées comme une source d'antioxydants naturels pour l'utilisation médicinale.

Bibliographie

- [1]. Ladoh Yemeda CF, Dibon SD, Nyegue MA, Djembissi Talla RP, Lenta Ndjakou B, Mpondo E, Yinyang J, Wansi JD. Activité antioxydante des extraits méthanoliques de *Phragmanthera capitata* (Loranthaceae) récoltée sur *Citrus sinensis*. *Journal of applied Bioscience*. (2014) ; 84 : 7636-7643.
- [2]. Aseervatham GSB, Sivasudha T, Jeyadevi R, Ananth DA. Environmental factors and unhealthy lifestyle influence oxidative stress in humans-an overview. *Environmental Science and Pollution Research*. (2013) ; 20(7), 4356-4369.
- [3]. Zeghad N. Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne ; Mémoire de magister. (2009); 84.
- [4]. Tumbas Vesna T, Četković Gordana S, Djilas Sonja M, Čanadanović-Brunet Jasna M, Vulić, Željko Knez Jelena J, Škerget Mojca. Antioxydant activity of mandarin (*Citrus reticulata*) peel; *BIBLID*. (2010) ; 40: 195-203.
- [5]. Kicel A, Michel P, Owczarek A, Marchelak A, Żyżelewicz D, Budryn G, Olszewska (MA.). Phenolic profile and antioxidant potential of leaves from selected *Cotoneaster Medik*. *Species. Molecules*. (2016) ; 21(6) : 688.
- [6]. Liu Z, Yang L. Antisolvent precipitation for the preparation of high polymeric procyanidin nanoparticles under ultrasonication and evaluation of their antioxidant activity in vitro. *Ultrasonics sonochemistry*. (2018) ; 43 : 208-218.
- [7]. Liu Z, Mo K, Fei S, Zu Y, Yang L. Efficient approach for the extraction of proanthocyanidins from *Cinnamomum longepaniculatum* leaves using ultrasonic irradiation and an evaluation of their inhibition activity on digestive enzymes and antioxidant activity in vitro. *Journal of separation science*. (2017) ; 40(15) : 3100-3113.
- [8]. Wang YZ, Fu SG, Wang SY, Yang DJ, Wu YHS, Chen YC. Effects of a natural antioxidant, polyphenol-rich rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract, on lipid stability of plant-derived omega-3 fatty-acid rich oil. *LWT-Food Science and Technology*. (2018) ; 89 : 210-216.
- [9]. Konan Y, Witabouna KM, Bassirou B, Kagoyire K. Antioxidant activity and total phenolic content of nine plants from Côte d'Ivoire (West Africa). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. (2014) ; 4(8) : 36
- [10]. Afsar T, Razak S, Shabbir M, Khan MR. Antioxidant activity of polyphenolic compounds isolated from ethyl-acetate fraction of *Acacia hydasppica* R. Parker. *Chemistry Central Journal*. (2018) ; 12(1) : 5.
- [11]. Olakunle G, Wole, Emmanuel F Myade. Effect of seismic operations on cetaceans sightings off-shore Akwa Ibom State, south-south, Nigeria. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, (2005); 8(4) : 1570-1580.
- [12]. Zirihi GN, Kra AK, Guédé-Guina F. Evaluation de l'activité antifongique de *Microglossa pyrifolia* (Lamarck O. Kuntze Asteraceae) « PYMI » sur la croissance in-vitro de *Candida albicans*. *Revue de médecine et de pharmacopées Africaines*. (2003); 17:11-19.
- [13]. McDonald S, Prenzler PD, Antolovich M, Robards K. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food chemistry*. (2001) Apr 1 ; 73(1): 73-84.
- [14]. Li HB, Cheng KW, Wong CC, Fan KW, Chen F, Tian Y. Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fraction of selected microalgae. *Food Chemistry*. (2007) ; 102 : 771-776.
- [15]. Bahorun T, Gressier B, Troitin F, Brunet C, Dine T, Luyckx M, Vasseur J, Cazin M, Cazin JC, Pinkas M. Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparation; *Arznei. Forschung*. (1996) ; 46: 1086-1089.
- [16]. Chang C, Yang M, Wen H, Chern J. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal Food Drug Analysis*. (2002); 10: 178-182.

Caractéristiques chimiques des feuilles de *Hyptis suaveolens* après extraction de l'huile essentielle

SOUMAHORO Brahima; SORO YAYA; SIAKA SORHO

Laboratoire des Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles (LAPISEN) de l'INP-HB de Yamoussoukro, BP 1093 Yamoussoukro (Côte d'Ivoire).

Adresse courriel : brahima.soumahoro@inphb.ci

Résumé

Hyptis suaveolens (L.) est une plante aromatique dont les feuilles contiennent aussi bien des huiles essentielles (moins de 1%)¹ que des biomolécules actives non volatiles (plus de 8%)². Cependant, les résidus de feuilles après extraction de l'huile essentielle sont généralement mal exploités. Une étude récente a montré que l'extrait hydroéthanolique de ces résidus a des activités antimicrobiennes plus accentuées que celui des feuilles sans extraction de l'huile essentielle³. Pour apporter des explications scientifiques à ces activités biologiques, les teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux de même que l'activité antioxydante des feuilles avant et après extraction de l'huile essentielle ont été déterminées. 100g de poudre de feuilles avant et après extraction de l'huile essentielle prise séparément ont été extrait avec de l'éthanol-eau (70/30 ; v/v) par macération pour obtenir les extraits hydroéthanoliques (1) et (2). Les concentrations en polyphénols et flavonoïdes totaux ont été déterminées par des méthodes spectrophotométriques^{4,5,6}. L'activité antioxydante a été évaluée par les méthodes DPPH et ABTS. Les teneurs en polyphénols totaux baissent de 39,167±2,222 à 20,833±1,111 mg EAG/g d'extrait au cours de l'extraction de l'huile essentielles. En revanche, les concentrations en flavonoïdes totaux sont plus importantes (20,583±0,389 mg EQ/g d'extrait) après hydrodistillation contre (15,417±0,222 mg EQ/g d'extrait) avant. L'activité antioxydante s'accroît après extraction de l'huile essentielle avec respectivement des valeurs de IC₅₀ allant de 0,28mg/mL à 0,27mg/mL pour le DPPH et de TEAC allant de 256,47µmol/L TE à 290,91µmol/L TE pour l'ABTS. Comparativement à l'acide ascorbique de IC₅₀ 0,05mg/mL, les feuilles de *Hyptis suaveolens* auraient une activité antioxydante modérée. L'accentuation des activités antimicrobiennes et antioxydantes pourrait être liée à l'accroissement de la concentration de flavonoïdes extraits des feuilles après extraction de l'huile essentielle. L'élucidation des structures de ces composés phénoliques augmenterait l'intérêt pour ces résidus de feuilles.

Mots clés : *Hyptis Suaveolens* ; huile essentielle.

Chemicals features of *Hyptis suaveolens* leaves after essential oil extraction

Abstract

Hyptis Suaveolens (L.) Poit; (Lamiaceae) is an aromatic plant which leaves contain not only essential oils (less than 1%)¹ but also non-volatiles bio-actives substances (more than 8%)². However, after essential oil extraction, the leaves residues are generally poorly exploited or neglected. A recent biological study showed that hydro-ethanol extracts of leaves residues after essential oil extraction had antimicrobial activities more accentuated than those leaves extract without essential oil extraction³. In the objective to bring scientific explanations to these biological activities, the total polyphenols and flavonoids content and DPPH and ABTS antioxidant method test of the leaves before and after essential oil extraction has been determinate. A mixture of each air-dried powdered leaves before and after oil extraction and ethanol-water (70/30; v/v) solvent, separately is brought to maceration under magnetic stirrer during 24 hours for three times at the laboratory temperature to obtain hydro-ethanol extract (1) and (2). The polyphenols and flavonoids content has been realize using the spectrophotometric method^{4,5,6}. The contents of polyphenols drop from 39.167±2.222 to 20.833±1.111 mg EAG/g of extract during the extraction of the essential oil. On the other hand, the concentrations of total flavonoids are higher (20.583±0.389 mg EQ/g of extract) after hydrodistillation against (15.417±0.222 mg EQ/g of extract) before. The antioxidant activity increases after extraction of the essential oil with respectively IC₅₀ values ranging from 0.28mg/mL to 0.27mg/mL for DPPH and TEAC values ranging from 256.47µmol/L TE to 290, 91µmol/L TE for ABTS. Compared to ascorbic acid of IC₅₀ 0.05mg/mL, the leaves of *Hyptis suaveolens* would have a moderate antioxidant activity. The accentuation of the leaves antimicrobial and antioxidant activities could be due to the flavonoids content increase after essential oil extraction. The determination of those polyphenols structures could increase the interest for these residues.

Key words: *Hyptis Suaveolens*, after essential oil extraction.

Introduction

Les plantes constituent une source prioritaire et inépuisable de molécules pour le traitement de diverses maladies dans les populations des pays en développement. Ainsi, *Hyptis Suaveolens* (Lamiaceae),

répandue dans les zones tropicales d'Amérique, d'Asie et d'Afrique, est le plus souvent utilisée dans la pharmacopée pour le traitement de l'Asthme, des panaris, de l'Ictère et de l'hyperthermie^[1]. Elle est stimulante, carminative, sudorifique, lactogène, anticatarrhale et antiparasitaire cutanée^[2]. Les feuilles et les brindilles sont antiplasmodiques, antioxydantes, antibactériennes, antifongiques, antidiabétiques, antirhumatiques, antispasmodiques, anti-inflammatoires et antiseptiques dans les cas de brûlures et de multiples complications de la peau^[3]. La décoction des racines est un apéritif et est renommée pour sa teneur en acide urosolique, un inhibiteur naturel de l'intégration du VIH^[4].

Les analyses phytochimiques préliminaires des extraits de feuilles ont révélé la présence d'alcaloïdes, de sucres simples, de stéroïdes, de terpénoïdes, de tanins, de flavonoïdes, d'anthraquinones et de phénols qui représentent plus de 13% de la masse des feuilles sèches^{[5][6]}. Les feuilles de la plante contiennent également des huiles essentielles (moins de 1% de la masse des feuilles sèches) qui renferment du menthol, des limonènes et des sesquiterpènes^[7] et qui possèdent de nombreuses propriétés pharmacologiques et biologiques^{[8][9]}. Cependant, après l'extraction de l'huile essentielle, les résidus de feuilles contenant des composés non volatils sont le plus souvent inexploités malgré leurs potentielles propriétés^[10].

Depuis quelques années, notre laboratoire développe un programme de valorisation de ces résidus. Ainsi, dans une étude récente, nous avons montré que les extraits hydroéthanoliques des feuilles de *Hyptis suaveolens* après extraction de l'huile essentielle ont une activité antimicrobienne plus accentuée que ces feuilles avant extraction de l'huile essentielle^[6]. Ce résultat pourrait suggérer la transformation de certains composés en d'autres composés à forte activité antimicrobienne sous l'effet de la chaleur ou encore l'augmentation des quantités des polyphénols et des flavonoïdes totaux connus pour leurs activités antimicrobiennes. Malheureusement, nous n'avons trouvé dans la littérature aucune base de données phytochimiques sur les feuilles de cette plante après extraction de son huile essentielle permettant de justifier ces activités biologiques.

La présente étude vise à déterminer la composition en métabolites secondaires ainsi qu'à quantifier les polyphénols et flavonoïdes totaux et d'évaluer l'activité antioxydante d'extraits et de fractions de feuilles de *Hyptis suaveolens* avant et après extraction de l'huile essentielle.

1. Matériel et méthodes

1.1. Matériel végétal

Les feuilles de *Hyptis suaveolens* ont été récoltées en juillet 2017 à Yamoussoukro (6°47'18.762" Nord et 5°15'25.9992" Ouest) au centre de la Côte d'Ivoire et identifiées par monsieur Amani N'Guessan, botaniste à l'Institut National Polytechnique Félix HOUPHOUËT-BOIGNY (INP-HB) de Yamoussoukro. Les feuilles ont été séchées à l'ombre à la température ambiante du laboratoire (26 à 30 °C) pendant 7 jours et réparties en 2 lots qui ont servi à la préparation des 2 échantillons.

1.2. Méthodes

2.2.1. Préparation des échantillons

Les feuilles sèches avant et après extraction de l'huile essentielle, par hydrodistillation à l'aide d'un dispositif de type Clevenger durant 3h, ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique de marque IKA M20 (France) et les poudres obtenues ont été tamisées à l'aide d'un tamis de 0,5 mm de maille. Les poudres obtenues (figure 1) ont été conservées dans des bocaux colorés à 4 °C jusqu'à leur utilisation ultérieure.



(1) Avant extraction de l'huile essentielle



(2) Après extraction de l'huile essentielle

Figure 1 : Poudres de feuilles sèches de *Hyptis suaveolens* avant et après extraction de l'huile essentielle

2.2.2. Préparation des extraits hydroalcooliques totaux

Les extraits hydroalcooliques totaux ont été préparés selon la méthode décrite par Yapi Yayé *et al.*^[11]. Une masse de 100g de broyat de chaque échantillon a été macérée dans 1 L d'un mélange éthanol/eau (70/30 : v/v) sous agitateur magnétique durant 24 heures. Après décantation, le mélange a été successivement filtré sur du coton hydrophile et du papier Watman n° 2. L'opération a été répétée jusqu'à épuisement du broyat. Le filtrat obtenu a été séché sur sulfate de sodium anhydre et concentré à pression réduite à la température de 40 °C à l'aide d'un évaporateur rotatif de type BUCHI 461 puis lyophilisé pour donner les extraits hydroalcooliques totaux avant (E_{HA1}) et après (E_{HA2}) extraction de l'huile essentielle.

2.2.3. Fractionnement des différents extraits hydroalcooliques totaux

Les extraits hydroalcooliques totaux obtenus ont été fractionnés successivement à partir de solvants de polarités croissantes (hexane, dichlorométhane, acétate d'éthyle, éthanol et eau) suivant la méthode rapportée par Bouamama *et al.*^[12]. Les extraits hydroalcooliques 1 et 2 (10 g) ont été dissous dans 100 mL d'eau et partitionnés successivement avec l'hexane (3x 100mL), le dichlorométhane (3x 100 mL) et l'acétate d'éthyle (3x 100 mL). La phase aqueuse résultante a été séchée puis extraite avec l'éthanol (3x 100 mL). Le résidu solide résultant constitue l'extrait aqueux. Les différentes phases organiques obtenues ont été séparément séchées sur sulfate de sodium anhydre. Après filtration et élimination des solvants sous pression réduite, les fractions à l'hexane (F_{HEX} : **1,632 g et 1,232 g**), au dichlorométhane (F_{DCM} : **1,823 g et 1,997 g**), à l'acétate d'éthyle (F_{AE} : **2,079 g et 2,573 g**), à l'éthanol (F_{Eth} : **0,961 g et 1,236 g**) et l'eau (F_{Aq} : **3,404 g et 2,953 g**) respectivement avant et après extraction de l'huile essentielle ont été obtenues.

2.2.4. Criblage des familles de métabolites secondaires

La méthode de criblage utilisée est celle décrite par Harbone et basée sur des réactions de précipitation et/ou de coloration^[13].

2.2.5. Dosages des polyphénols et flavonoïdes totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé selon la méthode décrite par Wood *et al.*^[14]. A un volume de 30 μ L d'extrait ont été ajoutés 2,5 mL de réactif de Folin-Ciocalteu dilué au 1/10^e. Le mélange obtenu a été maintenu pendant 2 min à l'obscurité à la température ambiante (27 \pm 03°C) puis 2 mL de carbonate de sodium (75 g.L⁻¹) y ont été ajoutés. La solution obtenue a été ensuite incubée à 50 °C pendant 15 min. La lecture de l'absorbance a été réalisée au spectrophotomètre UV-visible à une longueur d'onde de 760 nm contre un blanc constitué de 5 mL de réactif de Folin-Ciocalteu dilué au 1/10^e et de 4 mL de carbonate de sodium (75 g.L⁻¹). L'acide gallique a été utilisé comme standard de référence pour la quantification des teneurs en polyphénols totaux exprimées en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait).

La teneur en flavonoïdes totaux a elle été déterminée selon la méthode décrite par Marinova *et al.*^[15]. Des volumes de 0,75 mL de nitrite de sodium à 5% (m/v) et de 0,75 mL de chlorure d'Aluminium à 10% (m/v) ont été ajoutés à 2,5 mL d'extrait de ratio 1/500 (m/V). Après 5 min d'incubation, le mélange a été mis en contact avec 5 mL d'une solution de soude à 1 M. Le volume obtenu a été ajusté à 25 mL puis agité vigoureusement. L'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 510 nm. La quercétine a été utilisée comme standard de référence pour la quantification des teneurs en flavonoïdes totaux exprimées en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ.g⁻¹ d'extrait).

2.2.6. Evaluation de l'activité antioxydante

La capacité antioxydante réalisée sur des extraits de plantes a été effectuée en se basant sur la dégradation du radical DPPH^[16]. La mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration violette, due à une recombinaison des radicaux DPPH[•], mesurable par spectrophotométrie UV. Une solution de DPPH 6,34 x 10⁻⁵ M préparée à partir de 2,5mg de DPPH dissout dans 100mL de méthanol absolu a été protégée de la lumière et stockée à basse température. La Vitamine C a été utilisée comme témoin positif. Une gamme de concentrations (500 ; 300 ; 100 ; 50 et 25 μ g/mL) des extraits de plantes ou de la vitamine C (antioxydant de référence) a été préparée dans du méthanol. Ensuite, 50 μ L de chaque solution ont été ajoutés à 1,95 ml de solution de DPPH. Après homogénéisation, le mélange a été incubé à la température du laboratoire à l'obscurité. Après 30 min

d'incubation, les absorbances ont été mesurées à 517 nm contre un « blanc » qui ne contient que du méthanol. L'expérience a été reprise trois fois. Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH a été calculé selon l'équation suivante :

$$\%I = (A_0 - A_e) * 100 / A_0$$

A₀ = Absorbance du DPPH sans extrait à t = 0

A_e = Absorbance du DPPH résiduel (extrait + DPPH)

La concentration d'extrait de plante responsable de 50% d'inhibition du radical DPPH (IC₅₀) a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.

Selon Miller et al. (1993)[17], l'activité antioxydante d'un extrait réside dans sa capacité à stabiliser le radical cationique ABTS^{•+} de coloration bleu-vert en le transformant en ABTS+ incolore par piégeage d'un proton. Le radical-cationique ABTS^{•+} a été obtenu en mélangeant 8 mM ABTS (87,7 mg dans 20 mL d'eau distillée) et 3 mM de persulfate de potassium (0,0162 g dans 20 mL eau distillée) dans un ratio 1 : 1 (v/v). Ensuite, le mélange réactionnel a été incubé à l'obscurité à température ambiante (27 à 30°C) pendant 16 heures. Puis, la solution d'ABTS^{•+} obtenue a été diluée avec du méthanol absolu pour avoir une solution d'absorbance 0,7±0,02 à 734 nm. En outre, une prise d'essai de 3,9 mL de cette solution diluée d'ABTS^{•+} ont été ajoutés à 100 µL du composé à tester. Après Agitation, le mélange a été incubé pendant 6 minutes à l'obscurité. Derrière, l'absorbance résiduelle du radical ABTS^{•+} a été mesurée à 734 nm au spectrophotomètre UV-visible et devrait représenter entre 20%-80% de l'absorbance du blanc. Les essais ont été réalisés en triple et les résultats ont été exprimés en µmol Trolox équivalent par litre d'extrait (µmol/L TE).

L'activité des composés est exprimée par la Capacité Antioxydante Equivalente Trolox (TEAC) qui correspond à la concentration de Trolox (antioxydant de référence) induisant la même capacité antioxydante qu'une concentration de 1 mM du composé testé. L'étalonnage du spectrophotomètre a été effectué par lecture de l'absorbance de différentes concentrations de trolox (3,75 ; 5 ; 6,25 ; 10 ; 11,25, 13,75 et 15.10⁻⁴ mM) et le taux d'inhibition (%I) de l'ABTS^{•+} a été déterminé comme suit :

$$\% I = [(Abs_{\text{contrôle}} - Abs_{\text{extrait}}) / Abs_{\text{contrôle}}] \times 100$$

Abs_{contrôle} = absorbance ABTS dilué,

Abs_{extrait} = absorbance ABTS dilué + échantillon

2. Résultats et discussion

2.1. Rendements d'extraction et de fractionnement des extraits

Les rendements des extraits hydroalcooliques (EHA) de broyats de feuilles de *Hyptis Suaveolens* avant et après extraction de l'huile essentielle (HE) ainsi que ceux des fractions à l'hexane (FHEX), au dichlorométhane (FDCM), à l'acétate d'éthyle (FAE), à l'éthanol (FEth) et à l'eau (FAq) issues de ces extraits sont donnés dans la figure 2.

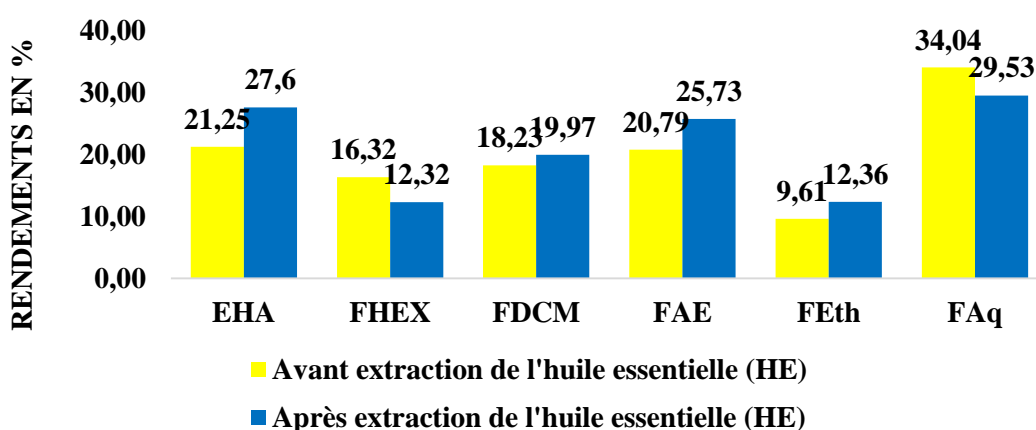


Figure 2 : Rendements des extraits et fractions de broyats de feuilles de *Hyptis Suaveolens* avant et après extraction de l'huile essentielle (HE)

La figure 2 montre qu'après extraction de l'huile essentielle, le taux de composés solubles dans le mélange éthanol-eau (70/30 : v/v) augmente de 21,27 à 27,60 %. Ce résultat pourrait être dû à la libération de certains sucres ou de certains composés polaires initialement liés aux composés terpéniques

qui sont les constituants majoritaires des huiles essentielles^[16]. En effet, à l'état naturel, certains monoterpènes et sesquiterpènes sont liés à des sucres ou à d'autres composés tels que certains composés phénoliques sous forme d'hétérosides, en formant des complexes moins solubles dans le mélange éthanol-eau^[17]. Ces résultats sont plus élevés que ceux obtenus par Goly et *al.*^[6] qui ont obtenus des rendements respectifs de **13,01** et **14,40** %. Cette différence pourrait être liée à la durée de l'extraction ou à la granulométrie des broyats, deux facteurs qui ont influencé le rendement d'extraction selon nos résultats antérieurs lors de la détermination des paramètres influençant le rendement d'extraction hydroalcoolique des métabolites secondaires de deux plantes^[18].

La figure 2 montre également que seuls les rendements des fractions à l'hexane et à l'eau avant extraction de l'huile essentielle (**16,32** et **34,04** %) sont plus élevés que ceux des mêmes fractions après extraction de l'huile essentielle (**12,32** et **29,53** %). Ce résultat pourrait s'expliquer par le fait que d'une part, l'huile essentielle a préalablement récupéré des composés solubles dans l'hexane et d'autre part, certains composés hydrophiles ont été extraits dans l'eau florale au cours de l'hydrodistillation.

Les rendements plus élevés dans les autres fractions après extraction de l'huile essentielle (**12,36** à **25,73** %) pourraient s'expliquer par l'élévation de la température lors de l'hydrodistillation. En effet, lors de réactions thermiques des aglycones sont libérés suite à des clivages glycosidiques ou des composés organiques sont transformés en d'autres composés plus solubles dans les solvants utilisés^[19]. Nous n'avons pas trouvé d'études similaires dans la littérature afin de les comparer à nos résultats.

2.2. Criblage phytochimique des extraits hydroalcooliques et des fractions

Les résultats des criblages phytochimiques réalisés sur les extraits hydroalcooliques avant (**E_{HA1}**) et après (**E_{HA2}**) extraction de l'huile essentielle ainsi que sur les fractions à l'hexane (**F_{HEX}**), au dichlorométhane (**F_{DCM}**), à l'acétate d'éthyle (**F_{AE}**), à l'éthanol (**F_{Eth}**) et l'eau (**F_{Aq}**) issues de ces extraits sont donnés dans le tableau I.

Tableau I : Résultats des criblages phytochimiques des extraits hydroalcooliques et des fractions issues de ces extraits.

Familles de métabolites secondaires	Avant extraction de l'huile essentielle						Après extraction de l'huile essentielle					
	E_{HA1}	F_{Hex}	F_{DCM}	F_{EA}	F_{Eth}	F_{Aq}	E_{HA2}	F_{Hex}	F_{DCM}	F_{EA}	F_{Eth}	F_{Aq}
Stérols et terpènes	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-
Polyphénols	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
Flavonoïdes	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Leucoanthocyanes	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+
Tanins catéchiques	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+
Tanins galliques	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+
Alcaloïdes	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-
Saponines	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+
Quinones et anthraquinones	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+

+ : Présence ; - : Absence

Les résultats du tableau I montrent la présence de toutes les familles de métabolites secondaires recherchées dans les extraits hydroalcooliques avant et après extraction de l'huile essentielle à l'exception des alcaloïdes qui sont absents après extraction de l'huile essentielle. Cette absence des alcaloïdes dans l'extrait hydroalcoolique **E_{HA2}** pourrait se justifier par l'extraction de ces alcaloïdes, qui ont été détecté dans l'eau florale, au cours de l'hydrodistillation. Ces résultats montrent également que l'huile essentielle n'a pas récupéré tous les terpènes des feuilles avant son extraction et que le mélange

éthanol-eau extrait la quasi-totalité des composés présents dans les feuilles de la plante comme rapporté dans la littérature^[20].

Lors du fractionnement, l'eau, l'acétate d'éthyle et l'éthanol extraient la quasi-totalité des familles de composés exceptés les quinones et anthraquinones qui sont absents dans l'éthanol. La fraction aqueuse est la plus riche en familles de métabolites secondaires, ce qui pourrait justifier l'utilisation de la décoction dans de nombreux traitements traditionnels. Ces résultats avant extraction de l'huile essentielle sont en accord avec ceux de la littérature^[5]. Nous n'avons pas trouvé dans la littérature d'études de criblages phytochimiques après extraction de l'huile essentielle de *Hyptis suaveolens* ni d'autres plantes afin de les comparer à nos résultats.

2.3. Dosage des polyphénols totaux

Les analyses quantitatives des polyphénols totaux, ont été effectuées à partir de la droite d'étalonnage, tracée en utilisant l'acide gallique comme standard avec un coefficient de régression de $R^2 = 0,9935$. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 3.

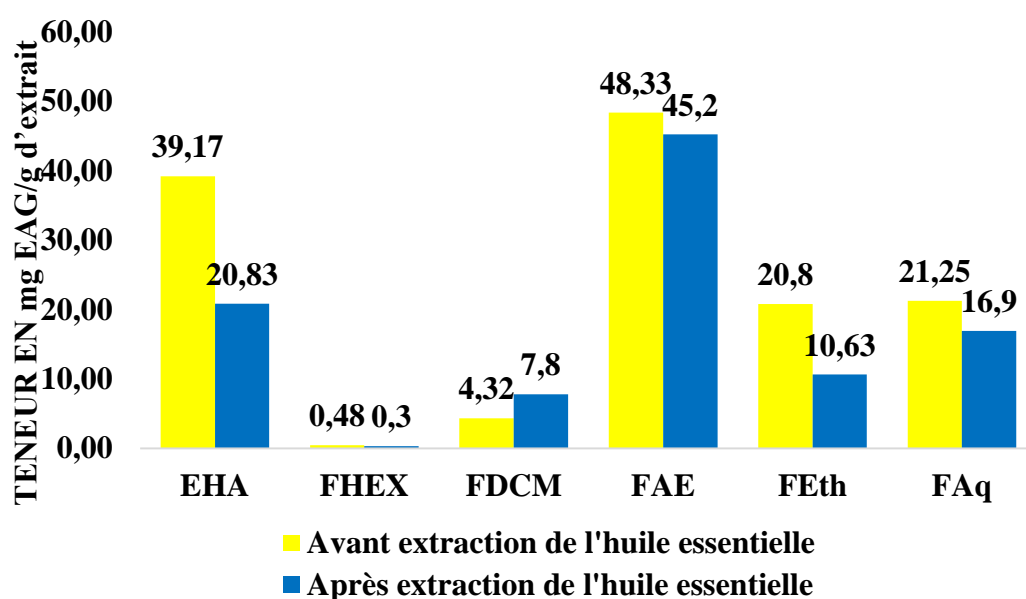


Figure 3 : Teneurs en polyphénols totaux des extraits hydroéthanoliques et des fractions avant et après extraction de l'HE

Les teneurs en polyphénols totaux des extraits hydroalcooliques (EHA) de feuilles de *Hyptis suaveolens* avant et après extraction de l'HE sont respectivement de **39,17** et **20,83 mg EAG/g** d'extrait selon la figure 3. Cette baisse serait liée au caractère hydrosoluble des composés phénoliques^[21] qui auraient été extraits en partie par l'eau florale pendant l'hydrodistillation^[10]. Ces teneurs sont supérieures à celles obtenues par Sharma et al. sur l'extrait aqueux de *Hyptis suaveolens* acclimaté en Inde (**10,00** et **2,5 mg EAG/g** d'extrait)^[10] et à celle obtenue par Dossa et al. (**34,32 mg EAG/g**) sur l'extrait hydroalcoolique de feuilles de *Hyptis suaveolens* acclimaté au Bénin avant extraction de l'huile essentielle^[20]. Cette différence pourrait être liée à la méthode d'extraction ou encore aux conditions environnementales et aux pratiques agricoles car ce sont des facteurs susceptibles d'impacter les valeurs des teneurs en polyphénols totaux^{[22][23]}.

Les teneurs en polyphénols totaux des différentes fractions avant et après extraction de l'huile essentielle varient respectivement de **0,40-48,33** et **0,30-45,20 mg EAG/g** de la fraction. De façon générale, les teneurs des fractions avant extraction de l'huile essentielle sont plus élevés à l'exception de la fraction au dichlorométhane (FDCM) où l'on note une augmentation de la teneur en polyphénols de **4,32±0,02** à **7,80±0,00 mg EAG/g** de la fraction. Cette augmentation de la teneur en polyphénols totaux extraits par le dichlorométhane serait probablement liée à la transformation de certains glycosides hydrosolubles en génines, par perte de leurs sucres, sous l'effet de la chaleur^[24], ce qui les rendrait plus solubles dans le dichlorométhane^[25]. L'acétate d'éthyle (FAE), dont les teneurs avant et après sont respectivement de

48,33±0,08 et **45,20±0,04 mg EAG/g**, reste le solvant qui extrait le maximum de composés phénoliques suivi de l'eau (FAq) (**21,25±0,01** et **16,90±0,03 mg EAG/g**) et de l'éthanol (FEth) (**20,80±0,04** et **10,63±0,08 mg EAG/g**). Ces résultats montrent que les polyphénols présents dans les fractions moyennement polaires ou polaires sont majoritairement sous une forme de génines libres comme l'ont montré des travaux antérieurs sur les feuilles fraîches de *Hyptis suaveolens* acclimaté au Nigeria^[26]. Nous n'avons pas trouvé dans la littérature d'études de détermination de la teneur en polyphénols des fractions après extraction de l'huile essentielle de *Hyptis Suaveolens* ni d'autres plantes afin de les comparer à nos résultats.

2.4. Dosage des flavonoïdes totaux

Les analyses quantitatives des flavonoïdes totaux ont été effectuées à partir de la droite d'étalonnage, tracée en utilisant la quercétine comme standard avec un coefficient de régression de **R² = 0,9983**. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 4.

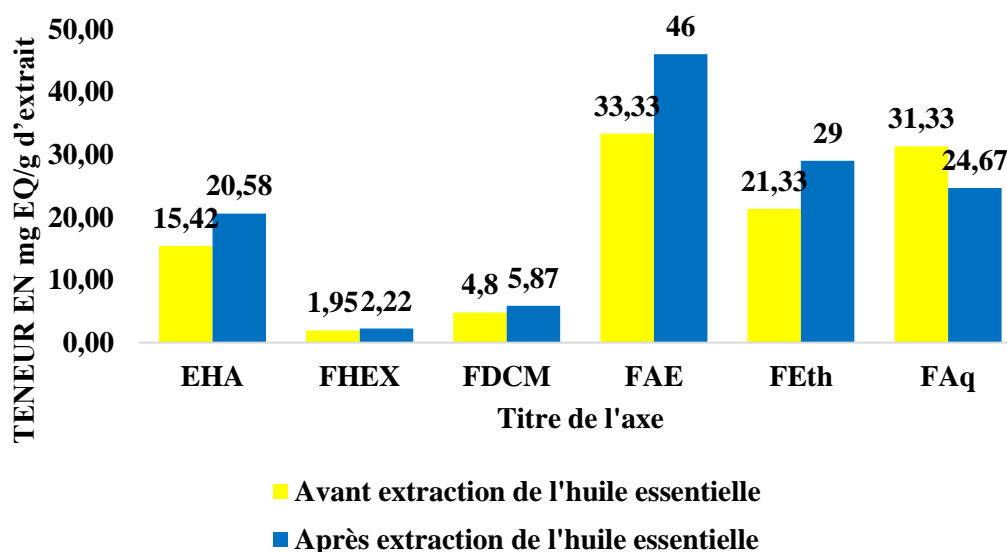


Figure 4 : Teneurs en flavonoïdes totaux des extraits hydroalcooliques et des fractions avant et après extraction de l'HE

Les teneurs en flavonoïdes totaux des extraits hydroalcooliques (EHA) de feuilles de *Hyptis suaveolens* avant et après extraction de l'HE sont respectivement de **15,42±0,39** et **20,58±0,22 mg EQ/g** d'extrait (figure 4). L'augmentation de la teneur en flavonoïdes dans l'extrait hydroalcoolique après extraction de l'huile essentielle pourrait s'expliquer par l'absence des huiles essentielles dont la présence inhiberait l'extraction des flavonoïdes. En effet, les composés terpéniques qui composent majoritairement les huiles essentielles sont généralement liés à certains composés phénoliques tels que les flavonoïdes en formant des complexes qui pourraient être insolubles dans le solvant d'extraction. L'élévation de la température lors de l'hydrodistillation provoquerait la destruction de ces complexes, favorisant ainsi l'extraction des flavonoïdes^{[21] [24]}. Cette augmentation de la teneur en flavonoïdes est en accord avec l'accentuation des activités antimicrobiennes de l'extrait hydroalcoolique des feuilles de *Hyptis suaveolens* après extraction de l'huile essentielle telle que rapportée par nos travaux antérieurs^[6]. En effet, les flavonoïdes sont reconnus pour leurs propriétés antioxydant et antimicrobiennes^[27].

Nos teneurs en flavonoïdes sont supérieures à celles obtenues par Sharma et al. sur l'extrait aqueux de *Hyptis suaveolens* acclimaté en Inde (**2,5-1,3 mg EQ/g** d'extrait)^[10] et à celle obtenue par Dossa et al. (**12,12 mg EQ/g**) sur l'extrait hydroalcoolique de feuilles de *Hyptis suaveolens* acclimaté au Bénin avant extraction de l'huile essentielle^[20]. Cette différence pourrait être liée à la méthode d'extraction utilisée ou encore aux conditions environnementales et aux pratiques agricoles car ce sont des facteurs susceptibles d'impacter les valeurs des teneurs en polyphénols totaux^{[22][23]}.

Les teneurs en flavonoïdes totaux des différentes fractions avant et après extraction de l'huile essentielle sont respectivement de **1,95-33,33** et **2,22-46,00 mg EQ/g** de la fraction. De façon générale, les teneurs en flavonoïdes des fractions avant extraction de l'huile essentielle sont plus faibles que celle à après extraction de l'HE à l'exception de celle de la fraction aqueuse (FAq) où l'on note une diminution de la

teneur en flavonoïdes de **31,33 à 24,67 mg EQ/g** de la fraction. Cette diminution de la teneur en flavonoïdes dans la fraction aqueuse après extraction de l'huile essentielle serait due à l'extraction d'une certaine quantité de flavonoïdes glycosylés hydrosolubles par l'eau florale au cours de l'hydrodistillation^[10].

Les fractions à l'acétate d'éthyle (FAE) avant et après extraction de l'HE (**33,33±1,77 à 46,00±2,00 mg EQ/g**) sont les plus riches en flavonoïdes suivies des fractions aqueuses (**31,33±0,44 à 24,67±0,44 mg EQ/g**) et éthanolique (FETH) (**21,33±0,89 à 29±0,67 mg EQ/g**). Les fractions au dichlorométhane (FDCM) (**4,8±0,17 à 5,87±0,19 mg EQ/g**) et à l'hexane (FHEX) (**1,95±0,03 à 2,22±0,06 mg EQ/g**) sont les plus pauvres en flavonoïdes. Ces résultats montrent que la teneur en flavonoïdes dans les fractions dépend de la polarité des solvants utilisés comme rapportés par Marc^[28]. Nous n'avons pas trouvé dans la littérature d'études de détermination de la teneur en flavonoïdes des fractions après extraction de l'huile essentielle de *Hyptis Suaveolens* ni d'autres plantes afin de les comparer à nos résultats.

2.5. Evaluation de l'activité antioxydante des feuilles de la plante avant et après extraction de l'huile essentielle

La présence de composés phénoliques dans les feuilles de *Hyptis suaveolens* serait une raison suffisante pour évaluer leur potentielle activité antioxydante. En effet, les composés phénoliques contribuent fortement à la réduction de l'action oxydative des espèces oxygénées réactives (EOR). Ces espèces sont la cause de nombreuses maladies cardiovasculaires. Il faut noter que les mesures de la capacité à piéger les radicaux libres avec les méthodes DPPH et ABTS sont facile, rapides et très sensibles et donc elles sont plus fréquemment utilisées pour une évaluation préliminaire du potentiel antioxydant des différentes substances naturelles.

2.5.1. Potentiel d'inhibition du radical DPPH

Les concentrations inhibitrices de 50% (IC₅₀) du radical DPPH des différents extraits et fractions avant et après extraction de l'huile essentielle sont représentées sur la figure 5. L'acide ascorbique (AA) a été utilisé comme antioxydant de référence.

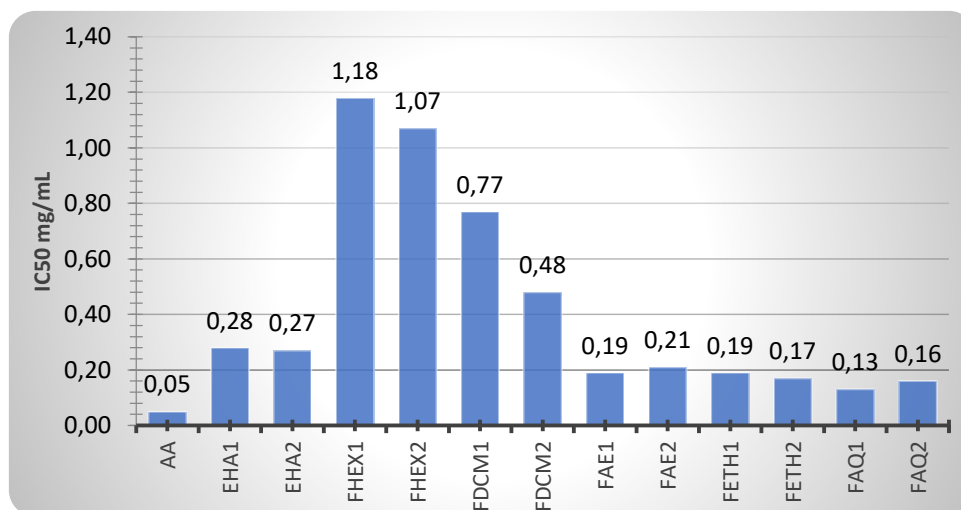


Figure 5 : Valeurs des concentrations d'inhibition du DPPH de 50% des différents extraits et fractions avant et après extraction de l'huile essentielle

La figure 5 montre que les extraits hydroalcooliques de feuilles de *Hyptis suaveolens* avant et après extraction de l'H.E ont des IC₅₀ de 0,28mg/mL et 0,27 mg/mL respectivement. Ces deux extraits ont des IC₅₀ très proche, ce qui signifierait que l'hydrodistillation n'a aucune influence sur l'activité antioxydante des extraits.. Ainsi, les extraits de feuilles de *Hyptis suaveolens* en particulier ceux des feuilles après extraction de l'HE pourraient être utilisés en additif à d'autres aliments comme antioxydant de substitution[32].

Nos résultats obtenus sur la valeurs des IC₅₀ avant extraction de l'H.E sont inférieure à ceux rapportés par Dossa et al.[33] avec des valeurs de IC₅₀ (0,28 mg/mL contre 0,58 mg/mL pour Dossa et al.). Ce qui serait probablement lié à l'écart des teneurs en composés phénoliques constaté entre ces deux études.

Nos résultats montrent également que les fractions polaires (acétate d'éthyle, eau et éthanol) ont des activités antioxydantes similaires. Ces activités antioxydantes de ces fractions polaires sont supérieures à celles des fractions apolaires (dichlorométhane, hexane). Ces résultats sont en accord avec les résultats de bon nombre d'auteurs qui ont montré que les solvants polaires extraient plus de composés antioxydants que les solvants de faible polarité[34]. Cependant, ces extraits polaires avec des valeurs de IC₅₀ variant entre 0,19 mg/mL et 0,23 mg/mL, restent des activités antioxydantes modérées en comparaison avec l'acide ascorbique dont la valeur de la concentration d'inhibition du radical DPPH de 50% est de 0,05mg/mL.

Le rapprochement de cette capacité de réduction du radical DPPH avec les teneurs en composés phénoliques des différents extraits et fractions permet de dire que le pouvoir antioxydant des feuilles de *Hyptis suaveolens* serait particulièrement liée la présence des flavonoïdes avec un coefficient de corrélation de R=0,904 contre R=0,816 et R=0,429 respectivement pour les polyphénols totaux et tanins totaux. Cette observation est en conformité avec celle déjà faite par un certain nombre d'auteurs[35].

2.5.2. Capacité de réduction du radical ABTS

La particularité de la méthode ABTS est sa capacité à piéger les radicaux libres à la fois dans les antioxydants lipophiles et hydrophiles. Les analyses ont été effectuées en utilisant le trolox comme référence (figure 6). Les résultats en triplex ont été exprimés par la Capacité Antioxydante Equivalente Trolox (TEAC) en µmol/L TE.

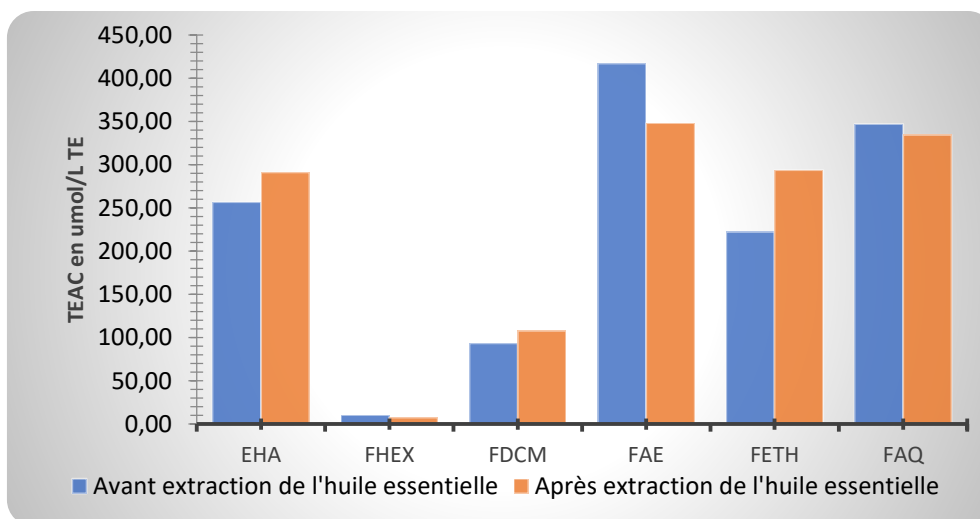


Figure 6 : Capacité de réduction du radical ABTS des extraits et fractions de feuilles de *Hyptis suaveolens* avant et après extraction de l'huile essentielle

Contrairement au test au DPPH, ici on note une légère augmentation du pouvoir antioxydant après extraction de l'huile essentielle avec des TEAC passant de 256,47 µmol/L TE à 290,91 µmol/L TE pour les extraits hydroalcooliques (figure 6). Ce qui est en conformité avec les teneurs en flavonoïdes totaux qui elles aussi croient au cours de l'hydrodistillation. Ainsi on pourrait confirmer que les flavonoïdes avec un coefficient de corrélation de R=0,9655 contribueraient beaucoup plus au piégeage du radical ABTS que les polyphénols et tanins totaux avec respectivement pour R=0,8701 et R=0,1208.

Ici également comme dans le cas du DPPH, les fractions polaires (acétate d'éthyle, eau et éthanol) ont des activités antioxydantes supérieures à celles des fractions apolaires (dichlorométhane, hexane) [36]. Ainsi, on observe les plus forts potentiels antioxydants pour les fractions acétate d'éthyle (416,71 à 346,08 µmol/L TE), suivies des fractions aqueuses (346,88 à 334,38 µmol/L TE) et des fractions éthanoles (222,25 à 293,57 µmol/L TE) respectivement avant et après extraction de l'huile essentielle. Cependant on remarque une baisse de cette activité pour les fractions acétate d'éthyle et une légère augmentation pour les fractions aqueuses après extraction de l'HE contrairement à leurs teneurs en flavonoïdes totaux qui augmentent pour les premières et baissent pour les secondes. Ce qui s'expliquerait par la nature des flavonoïdes extraits par ces deux types de solvant, car le pouvoir antioxydant des composés phénoliques dépend non seulement de la quantité et de la nature des composés

mais également de leurs structures et du nombre de groupement hydroxyle sur leurs chaînes carbonées[37],[38].

Conclusion

Les rendements d'extraction hydroalcoolique des feuilles de *Hyptis suaveolens* sont plus élevés après extraction de l'huile essentielle. Les feuilles de *Hyptis suaveolens* contiennent la totalité des familles de métabolites secondaires recherchées avant et après extraction de l'huile essentielle à l'exception des alcaloïdes qui sont absents dans les feuilles après l'extraction de l'huile essentielle. De façon générale, les teneurs en polyphénols sont plus élevés avant extraction de l'huile essentielle contrairement aux teneurs en flavonoïdes qui le sont après extraction de l'huile essentielle. L'activité antioxydante des feuilles de *Hyptis suaveolens* est modérée tant avant qu'après extraction de l'huile essentielle. Cette activité paraît similaire pour les radicaux DPPH. Cependant, elle est plus accentuée après extraction de l'huile essentielle pour l'ABTS malgré la baisse des teneurs en polyphénols et tanins totaux avec l'hydrodistillation. Ainsi on pourrait dire que les flavonoïdes sont les principaux contributeurs de l'activité antiradicalaire des feuilles de la plante. Par ailleurs, au vu de leur activité antioxydante modérée, l'on pourrait suggérer les extraits de feuilles de *Hyptis suaveolens* comme additifs à d'autres aliments comme antioxydant de substitution.

Les feuilles de *Hyptis suaveolens* après extraction de l'huile essentielle sont donc une source potentielle de composés bioactifs dont l'exploitation contribuerait à une utilisation optimale et une gestion durable de la plante. Les structures des polyphénols et flavonoïdes des feuilles de *Hyptis suaveolens* avant et après extraction de l'huile essentielle sont en cours de détermination.

Références Bibliographiques

- [1] P. Sharma, R. K. Roy, Anurag, D. Gupta, and V. K. Sharma, "Hyptis suaveolens (L.) poit: A phyto-pharmacological review," *Int. J. Chem. Pharm. Sci.*, vol. 4, no. 1, pp. 1–11, 2013, [Online]. Available: www.ijcps.com.
- [2] J. M. Daziel, *The Useful Plants of Tropical West Africa, London: Crown Agents for the Colonies*. London, 1937.
- [3] P. Grassi, T. S. U. Reyes, S. Sosa, A. Tubaro, O. Hofer, and K. Zitterl-Eglseer, "Anti-Inflammatory Activity of Two Diterpenes of Hyptis suaveolens from El Salvador," 2006. Accessed: Mar. 04, 2019. [Online]. Available: <http://www.znaturforsch.com>.
- [4] A. C. P. Moreira, E. L. de Oliveira, P. A. Wanderley, S. C. Egberto, and E. L. de Souza, "Composition chimique et activité antifongique de l'huile essentielle de feuilles de l'espèce Hyptis suaveolens (L.) poit contre aspergillus," *J. brésilien Microbiol.*, vol. 41, pp. 28–33, 2010, Accessed: Mar. 04, 2019. [Online]. Available: <https://kopernio.com/viewer?doi=10.1590/S1517-83822010000100006&route=6>.
- [5] S. Kumar, Nandha, and N. Thampi, "Phytochemical screening and characterization of the bioactive compounds from the leaves of Hyptis suaveolens and Spathodea campanulata," *J. Chem. Pharm. Res.*, vol. 7, no. 7, pp. 840–850, 2015, Accessed: Mar. 05, 2019. [Online]. Available: www.jocpr.com.
- [6] K. R. C. Goly, Y. SORO, A. DADIE, and A. B. B. and D. M. KASSI, "Antibacterial activity of essential oils and extracts from the leaves of Hyptis suaveolens and Lippia multiflora on multi-resistant bacteria," *rasayan j. Chem.*, vol. 8, no. 4, pp. 396–403, 2015, Accessed: Mar. 05, 2019. [Online]. Available: <http://www.rasayanjournal.comhttp://www.rasayanjournal.co.in>.
- [7] E. V. Tia *et al.*, "Chemical composition and insecticidal activity of essential oils of two aromatic plants from Ivory Coast against Bemisia tabaci G. (Hemiptera: Aleyrodidae)," *Nat. Prod. Commun.*, vol. 6, no. 8, pp. 1183–8, Aug. 2011, Accessed: Mar. 05, 2019. [Online]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21922931>.
- [8] B. Pati, S. Mandal, K. Mondal, S. Dey, and B. Pati2, "Antimicrobial activity of the leaf extracts of <i>Hyptis suaveolens</i> (L.) poit," *Indian J. Pharm. Sci.*, vol. 69, no. 4, p. 568, 2007, doi: 10.4103/0250-474X.36946.
- [9] S. Tachakittirungrod and S. Chowwanapoonpohn, "Comparison of Antioxidant and Antimicrobial Activities of Essential Oils from Hyptis suaveolens and Alpinia galanga Growing in Northern Thailand," *C. J. Nat. Sci.*, vol. 6, no. 1, pp. 31–42, 2007, Accessed: Mar. 06, 2019. [Online]. Available: <http://cmuj.cmu.ac.th/sites/default/files/pdf/NaturalSciences/Volume 6, Number 1, January-June 2007/OneChapter/31-42.pdf>.
- [10] K. N'guessan, B. Kadja, N. Z. Guédé, T. Dossahoua, and A. Laurent, "Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire)," *Artic. Orig. Sci. Nat.*, vol. 6, pp. 1–15, 2009, Accessed: Mar. 06, 2019. [Online]. Available: <http://www.ethnopharmacologia.org/prelude/pdf/biblio-hg-53-guessan.pdf>.
- [11] Y. G. YAYE and J. A. A. B. A. et A. J. D. , Adou Koffi Mathieu KRA, "ÉVALUATION DE L'ACTIVITÉ ANTIFONGIQUE ET ESSAI DE PURIFICATION DES PRINCIPES ACTIFS DES EXTRAITS DE Terminalia mantaly (H.Perrier), UNE COMBRETACÉE, SUR LA CROISSANCE IN VITRO DE Candida albicans," *Bull. la Société R. des Sci. Liège*, vol. 80, pp. 953–964, 2011, Accessed: Mar. 08, 2019. [Online]. Available: <https://popups.uliege.be/0037-9565/index.php?id=3491&file=1&pid=3480>.
- [12] H. Bouamama, T. Noël, J. Villard, A. Benharref, and M. Jana, "Antimicrobial activities of the leaf extracts of two Moroccan Cistus L. species," *J. Ethnopharmacol.*, vol. 104, pp. 104–107, Mar. 2006, doi: 10.1016/j.jep.2005.08.062.
- [13] J. B. Harbone, *Phytochemical Methods, A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*; New York. New York,

1998.

- [14] J. E. Wood, S. T. Senthilmohan, and A. V. Peskin, "Antioxidant activity of procyanidin-containing plant extracts at different pHs," *Food Chem.*, vol. 77, no. 2, pp. 155–161, May 2002, doi: 10.1016/S0308-8146(01)00329-6.
- [15] D. Marinova, F. Ribarova, and M. Atanassova, "TOTAL PHENOLICS AND TOTAL FLAVONOIDS IN BULGARIAN FRUITS AND VEGETABLES," 2005. Accessed: Mar. 06, 2019. [Online]. Available: <https://dl.uctm.edu/journal/node/j2005-3/Marinova.pdf>.
- [16] C. Sanchez-Moreno, "Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in food and biological systems," *Food Sci. Technol. Int.*, pp. 8(3) : 121-137, 2002.
- [17] N. . Miller, C. Rice-Evans, M. J. Davies, V. Gopinathan, and A. Milner, "A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates.," *Clin. Sci.*, pp. 84(4) : 407-412, 1993.
- [18] V. Bergen, P.F., Bull, I.D., Poulton, P.R., Evershed, RP, "Organic geochemical studies of soils from the Rothamsted Classical Experiments—I. Total lipid extracts, solvent insoluble residues and humic acids from Broadbalk Wilderness.," *Org. Geochem*, vol. 26, pp. 117–135, 1997.
- [19] S. D. C. K. Agbangnan D.C.P., Tachon C., Dangou J., Chrostowska A., Fouquet E., "Optimization of the extraction of sorghum's polyphenols for industrial production by membrane processes," *Res. J. Recent Sci.*, vol. 1(4), pp. 1–8, 2012.
- [20] K. patrick F. O. Koné, Y. Soro, and S. Siaka, "Détermination des paramètres influençant le rendement d'extraction hydro-alcoolique des métabolites secondaires de *Alchornea cordifolia* (Euphorbiaceae) et *Tridax procumbens* linn (Asteraceae)," *J. Soc. Ouest-Afr. Chim*, p. 16, 2017, Accessed: Aug. 20, 2019. [Online]. Available: <http://www.soachim.org>.
- [21] V. Jacob, "La Chromatographie. Performance (HPLC) Salle de TP de Génie Analytique. Présentation Théorique de la HPLC TYPE DE DOCUMENT : DT - PDF," in *alle de TP de Génie Analytique. Ed.2-22/08/2010*, 2010, p. 18.
- [22] Dossa et al., "IN VITRO ANTIPLASMODIAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF ETHANOLIC AND HYDROETHANOLIC EXTRACTS OF *HYPTIS SUAVEOLENS*," *World J. Pharm. Pharm. Sci.*, vol. 4, no. 08, pp. 101–112, 2015, [Online]. Available: www.wjpps.com.
- [23] J. Bruneton, "Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e ed.) - BRUNETON Jean - Google Livres," in *Ed. Lavoisier, Techniques et documentation*, 1999, p. 405.
- [24] S. A. Naczki M., Shahidi F., "Recovery of rapessed tannins by various solvent systems," *Food chemistry*, vol. 45(1), pp. 5–54, 1992.
- [25] K. W. Lee, Y. J. Kim, H. J. Lee, and C. Y. Lee, "Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine," *Food chemistry*, vol. 51, pp. 7292–7295, 2003.
- [26] K. J. Sr. Prema, J. Louis, and B. Varaprasad, "Phytopharmaceutical Studies of Selected Medicinal Plants Subjected to Abiotic Elicitation (Stress) in Industrial Area," in *INTECH*, the world's leading publisher Of, for scientists We are IntechOpen, Built by scientists, O. A. Books, and 200 4, Eds. India: We are IntechOpen, Built by scientists, for scientists, 2015, pp. 153–200.
- [27] J. H. Muyonga, B. Andabati, and G. Ssepuuya, "Effect of heat processing on selected grain amaranth physicochemical properties," *Food Sci. Nutr.*, vol. 2, no. 1, pp. 9–16, 2014, doi: 10.1002/fsn3.75.
- [28] A. Munin and F. Edwards-Lévy, "Encapsulation of Natural Polyphenolic Compounds; a Review," *Pharmaceutics*, vol. 3, no. 1999–4923, pp. 793–829, 2011, doi: 10.3390.
- [29] G. Oboh, "Polyphenol Extracts from *Hyptis suaveolens* Leaves Inhibit Fe²⁺-induced Lipid Peroxidation in Brain," *Int. J. Biomed. Pharm. Sci.*, vol. 2, pp. 41–46, 2008.
- [30] K. Konaté et al., "Antimicrobial activity of polyphenol-rich fractions from *Sida alba* L. (Malvaceae) against co-trimoxazol-resistant bacteria strains," *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.*, vol. 11, no. 1, pp. 1–6, 2012, doi: 10.1186/1476-0711-11-5.
- [31] J. G. Marco, "A rapid method for evaluation of antioxidants," *J. Am. Oil Chem.*, vol. (45), p. 594, 1968.
- [32] R. Chizzola, H. Michitsch, and C. Franz, "Antioxidative properties of *Thymus vulgaris* leaves: comparison of different extracts and essential oil chemotypes," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 56, pp. 6897–6904, 2008.
- [33] S. E. Medoatinsa et al., "IN VITRO ANTIPLASMODIAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF ETHANOLIC AND HYDROETHANOLIC EXTRACTS OF *HYPTIS SUAVEOLENS*," *World J. Pharm. Pharm. Sci.*, vol. 4, no. 08, pp. 101–112, 2015, [Online]. Available: www.wjpps.com.
- [34] A. et al. Dapkevicius, "Isolation and Structure Elucidation of Radical Scavengers from *Thymus vulgaris* leaves," *J. Nat. Prod.*, vol. 65(6), pp. 892–896., 2002.
- [35] U. Gavani and P. Paarakh, "Antioxidant activity of *Hyptis suaveolens* Poit.," *Int. J. Pharmacol.*, vol. 4(3), pp. 227–229, 2008.
- [36] D. et al. Bandonienè, "Antioxidative activity of sage (*Salvia officinalis* L.), savory (*Satureja hortensis* L.) and borage (*Borago officinalis* L.) extracts in rapeseed oil," *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, vol. 104(5), pp. 286–292, 2002.
- [37] M. Fiol et al., "Highly glycosylated and acylated flavonols isolated from kale (*Brassica oleracea* var. *sabellica*) – Structure -antioxidant activity relationship," *Food Res. Int.*, vol. 47, pp. 80–89, 2012.
- [38] V. Cheynier, Sarni-Marchando, and P., "Structures Phénoliques et Gout. In Les Polyphénols En Agroalimentaire," in *Les Polyphénols En Agroalimentaire; Tec & Doc Ed., Lavoisier, Paris*, 2006, pp. 89–134.

Activités analgésique et antipyrétique d'un extrait aqueux des tourteaux de la pomme de cajou (*Anacardium occidentale* L.)

Mamadou Dosso^{1*}, Allali Eugène Koffi², Doudjo Soro³, Ali Traore¹ Et Nafan Diarrassouba¹

*1*Unité de Formation et de Recherche des Sciences Biologiques, Département Biochimie-Génétique, Université Peleforo GON COULIBALY de Côte d'Ivoire, BP 1328, Korhogo-CI, Côte d'Ivoire.

*2*UFR Agroforesterie, Laboratoire d'Agrovalorisation, Département de Biochimie et de Microbiologie, Université Jean Lorougnon GUEDE, BP 150, Daloa, Côte d'Ivoire.

*3*UMRI Sciences des Procédés Alimentaires, Chimiques et Environnementaux, Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny (INP-HB), BP 1313, Yamoussoukro, Côte d'Ivoire.

*Auteur correspondant ; E-mail : coatcha1012@gmail.com

Résumé

Objectif : les anti-inflammatoires non stéroïdiens, provoquent des ulcères et des hépato-toxicités chez certains patients. Les agroressources notamment la pomme de cajou, aux contenus moléculaires d'intérêt pharmacologiques, pourrait être une alternative à ces molécules de synthèses. Ce présent travail a donc été initié pour évaluer les effets d'un extrait aqueux des tourteaux de la pomme de cajou (CAJ) sur la douleur et la fièvre associées à l'inflammation. **Méthodologie :** L'activité analgésique a été évaluée sur la douleur induite par injection de l'acide acétique chez la souris. S'agissant de l'activité antipyrétique, elle a été évaluée chez la souris rendue hyperthermique, par injection de la levure de bière. **Résultats :** CAJ pour des concentrations comprises entre 75 mg/Kg PC et 150 mg/Kg PC, diminue significativement les contorsions induites par l'acide acétique. En présence de la naloxone, cet effet protecteur de CAJ, diminue de 6,9% à 7,07%. Par ailleurs, CAJ, réduit l'hyperthermie provoquée par la levure de bière. **Conclusion :** CAJ possède des activités analgésiques périphériques et antipyrétiques. Il pourrait être, de ce fait un atout dans le traitement des douleurs et de la fièvre en médecine traditionnelle. Toutefois des fractionnements sont nécessaires pour indiquer les groupes moléculaires responsables desdits effets.

Mots clés : analgésique, antipyrétique, pomme de cajou, souris.

Analgesic and antipyretic activities of an aqueous extract of cashew apple cake (*Anacardium occidentale* L.)

Abstract

Objective: Non-steroidal anti-inflammatory drugs cause ulcers and hepatotoxicity in some patients. Agro-resources, in particular cashew apple, with molecular contents of pharmacological interest, could be an alternative to these synthetic molecules. The present work was therefore initiated to evaluate the effects of an aqueous extract of cashew apple cake (CAJ) on pain and fever associated with inflammation. **Methodology:** The analgesic activity was evaluated on pain induced by acetic acid injection in mice. The antipyretic activity was evaluated in hyperthermic mice, by injection of brewer's yeast. **Results:** CAJ for concentrations between 75 mg/Kg PC and 150 mg/Kg PC, significantly decreases acetic acid-induced contortions. In the presence of naloxone, this protective effect of CAJ, decreases from 6.9% to 7.07%. Furthermore, CAJ, reduces hyperthermia induced by brewer's yeast. **Conclusion:** CAJ has peripheral analgesic and antipyretic activities. It could therefore be an asset in the treatment of pain and fever in traditional medicine. However, fractionations are necessary to indicate the molecular groups responsible for the said effects.

Key words: analgesic, antipyretic, cashew apple, mouse

INTRODUCTION

L'efficacité des AINS, à soulager la fièvre et les douleurs explique le plus grand nombre de leur prescription. Toutefois, il est récurrent qu'ils provoquent des effets indésirables qui suscitent de réelles préoccupations. Les salicylés, antiinflammatoires antipyrétiques inhibant les COX1 en plus des COX2, provoquent des ulcères, des insuffisances rénales et des bronchospasmes chez des asthmatiques; l'acétaminophène, antalgique antipyrétique non salicylé, dérivé de la phénacétine, retiré du marché, expose l'individu à des hépato-toxicités, au-delà des doses recommandées ; les coxibs (rofécoxib et célécoxib), AINS de deuxième génération, qui ont l'avantage d'inhiber de manière sélective les COX2, responsables de la synthèse des prostaglandines « physiopathologiques », augmentent les risques

d'accidents cardiaques (Corrado et al., 2009 ; Ramalawi et al., 2013). Fort de ce constat, Il apparaît opportun de trouver des palliatifs, d'où l'intérêt porté aux agro-ressources qui seraient dotés d'effets thérapeutiques indéniables y compris contre les douleurs et la fièvre, avec moins d'effets secondaires. Le raisin est un régulateur des troubles d'hypertension artérielle. La pomme traite des inflammations de l'estomac et de l'intestin, ainsi que les affections du foie (Chira et al., 2008 ; Zouaouin, 2005). Le contexte indiqué, explique le choix de la pomme de cajou, faux fruit d'*Anacardium occidentale L.* Arbre de 8 à 10 mètres de haut, l'*Anacardium Occidentale L* appartient à la famille des anacardiacees dont font également partie le manguier (*Mangifera indica L.*) et le pistachier (*Pistacia vera L.*). Avec un diamètre pouvant atteindre 12 à 15 mètres, il possède un feuillage dense et ramifié, (De Logu, 1994). Le fruit, la noix de cajou, pend au bout d'un pédoncule charnu, juteux, de couleur rouge ou jaune à maturité appelé pomme de cajou (Soro, 2012,).

En médecine traditionnelle, l'huile caustique des noix, traite les dartres. Le décocté de l'écorce, est utilisé comme un antihypertenseur et un anti-dysentérique. Le fruit soulage les ulcères et les maux de dents (Tédong, 2007). La pomme est un agent antigrippal et antidiabétique.

Selon des études pharmacologiques, l'extrait aqueux de la pomme de cajou doué d'activité glycémique autorégulatrice, contient des saponosides, des flavonoïdes (Dosso et al., 2021).

Pour donc contribuer à enrichir ces données pharmacologiques, il s'agira dans cette étude d'évaluer les activités analgésique et antipyrétique de l'extrait aqueux de la pomme de cajou.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

MATERIEL

Matériel végétal

Les pommes de cajou récoltées sur les arbres ou ramassées après leur chute, au mois de Décembre 2019 proviennent de Korhogo, une ville située à l'extrême nord de la Cote d'Ivoire. Les pommes de couleur rouge ou jaune sans aucune blessure, ont été sélectionnées. Elles sont ensuite, séparées minutieusement des noix. Puis, elles ont été transportées au laboratoire.

Matériel animal

Des souris de l'espèce *Mus musculus* mâles et femelles de poids compris entre 20 et 30 g ont été utilisées pour les tests analgésiques et antipyrétique Elles proviennent de l'animalerie de l'institut Pasteur d'Adiopodoumé situé sur la route de Dabou (Côte d'Ivoire). Transportées à l'animalerie de l'université Peleforo Gon Coulibaly, elles y ont été élevées à une température moyenne de 28°C avec une humidité relative de 70% et nourries aux granulés.

Produits chimiques et substances naturelles

Acétylsalicylate de lysine (ASPEGIC): SANOFI-SYNTHELABO (France)

Naloxone AGUETTANT 0,4 mg/mL, injectable

Acide acétique : MERCK (Allemande)

Levure de bière : ARKOPHARMA BELUX s.a. (France)

METHODES

Préparation de l'extrait aqueux

Les pommes recueillies sont nettoyées, lavées puis désinfectées pendant 30 min du chlore actif dans des bacs. Elles sont ensuite rincées avec de l'eau avant d'être pressées. Le pressage et l'essorage sont réalisés manuellement. Les tourteaux séparés du jus, ont été séchés à l'ombre aentre 25 et 28°C. Séchés, ces tourteaux sont broyés et réduits en poudre. Cette poudre a servi à la préparation de l'extrait aqueux de pomme de cajou. Deux cents grammes (50g) de broyat de pomme de cajou sont mixées sur un agitateur magnétique de type AGIMATIC-N, pendant 24 heures dans un litre d'eau distillée. La solution obtenue est filtrée à l'aide du coton hydrophile et sur papier Wattman. La même opération est reprise. De l'eau distillée est ajoutée au culot, puis mixée pendant 2 heures et filtrée également. Les filtrats sont recueillis dans un ballon et séchés à l'étuve à 60°C. La poudre obtenue, parfaitement soluble dans l'eau, est utilisée comme l'extrait aqueux de pomme de cajou (CAJ).

Test du writhing

L'effet analgésique de CAJ a été évalué selon la méthode du writhing test, décrite par Koster et al., (1959) modifiée par Collier et al., (1968), et utilisée par plusieurs auteurs notamment Soro et al., (2009) et Ouédraogo et al., (2012). Il s'est agi de compter le nombre de contorsions abdominales induites par l'injection intrapéritonéale de l'acide acétique (0,6%), chez la souris, en présence de la substance test, l'eau distillée ou un analgésique de référence, l'aspirine.

Activité analgésique de CAJ

Nous disposons de cinq (5) lots de souris, chaque lot contenant 5 animaux. Le lot 1, témoin a reçu par voie orale de l'eau distillée, dix minutes avant l'injection de l'acide acétique (0,6%). Dans les mêmes conditions, deux autres lots ont reçu du tramadol et de l'aspirine. Quant aux deux lots restants, ils ont traité avec du CAJ, dix minutes également avant l'injection de l'acide acétique.

- ✓ Lot1 : souris traitées avec de l'eau distillée
- ✓ Lot2 : souris traitées avec du tramadol à 15 mg/Kg PC
- ✓ Lot3 : souris traitées avec de l'aspirine 75 mg/Kg PC
- ✓ Lot4 : souris traitées avec du CAJ à 75 mg/Kg PC
- ✓ Lot5 : souris traitées avec du CAJ à 150 mg/Kg PC

Activité analgésique de CAJ en présence de la naloxoe

Nous disposons de cinq (5) lots, chaque lot contenant 5 souris. Le lot témoins a reçu respectivement de la naloxone et de l'eau distillée, 10 minutes avant l'injection de l'acide acétique. Quatre autres lots ont reçu de la naloxone et des doses uniques de CAJ, 10 minutes avant l'injection de l'acide acétique. Le témoin positif a reçu de la naloxone et l'aspirine ou du tramadol avant l'injection de l'acide acétique.

- ✓ Lot1 : souris traitées avec de la naloxone et l'eau distillée
- ✓ Lot2 : souris traitées avec de la naloxone et du tramadol à 15 mg/Kg PC
- ✓ Lot3 : souris traitées avec de la naloxone et l'aspirine à 75 mg/Kg PC
- ✓ Lot4 : souris traitées avec de la naloxone et CAJ à 75 mg/Kg PC
- ✓ Lot5 : souris traitées avec de la naloxone et CAJ à 150 mg/Kg PC

Test de l'activité antipyrétique

L'injection sous cutanée d'une suspension de levure de bière, entraîne une hyperthermie chez la souris. Les substances naturelles antipyrétiques et des molécules de référence dont l'aspirine, réduisent cette hyperthermie.

Réparties en cinq (5) lots de 5 souris par lot, elles reçoivent en injection sous cutanée dans la région dorsolatérale une suspension aqueuse de levure de bière à 20% à raison de 0,1 ml pour 10 mg P.C. Puis, elles sont mises à jeun. L'effet pyrogène de la levure de bière engendre un accroissement de la température des souris après dix-huit heures de jeûne. Chaque lot de rats reçoit une dose unique de la substance test (50 ; 100 et 200 mg/Kg PC) ou de la molécule de référence, l'aspirine (75mg/Kg PC). Le lot témoin reçoit de l'eau distillée.

Les températures rectales sont relevées 1 ; 2 ; 3 ; 4 heures après l'administration des substances tests, à l'aide d'un thermomètre électronique de précision. La température avant l'administration de la levure de bière, a été également relevée.

Analyse statistique

Les données statistiques exprimées en moyennes \pm erreur standard ($M \pm ESM$) ont été obtenu à partir des (n=4) expériences séparées. Les moyennes calculées ont été comparé à partir du test (t) de Student. Lorsque $p \leq 0,05$, la différence est dite significative. Les courbes et l'analyse statistique ont été réalisées avec le logiciel Graph Pad Prism 5.01, San Diego, CA, USA

RESULTATS

Activité analgésique des tourteaux de la pomme de cajou (CAJ)

Le tableau 1, montre l'activité analgésique des tourteaux de la pomme de cajou sur les contractions abdominales induites par l'injection de l'acide acétique, chez la souris. Le nombre important de contorsions provoquées par l'injection de l'acide acétique en présence de l'eau distillée indique de l'effet algogène de ce produit chimique. L'administration orale de l'aspirine à 75 mg/Kg PC dix minutes avant l'injection de l'acide acétique, agent algogène, inhibe significativement de 68,96% ($P < 0,01$) la douleur induite. La réduction est encore importante avec la présence de tramadol (15mg/Kg

PC), un antalgique morphinique, affichant un pourcentage d'inhibition de 93,10% ($P < 0,001$). L'administration préalable des tourteaux de la pomme de cajou (CAJ) pour des concentrations comprises entre 75 et 150mg/Kg PC, diminue de manière dose-dépendante les contorsions abdominales chez la souris. Cette inhibition varie entre 55,17 et 79,31% ($P < 0,01$).

Le tableau 2, montre l'activité analgésique de CAJ en présence du naloxone sur les contractions abdominales induites par l'injection de l'acide acétique, chez la souris. Le nombre de contorsions abdominales obtenu en présence de la naloxone est sensiblement proche de celui de l'animal témoin (eau distillée). La naloxone ne possède de ce fait, aucun effet propre. En présence de la naloxone, antagoniste morphinique, l'effet protecteur du tramadol contre la douleur induite par l'acide acétique, a été réduit significative, de 48,28% ($P < 0,01$). Dans les mêmes conditions, l'effet protecteur de l'aspirine, a été réduit non significativement de 6,9%. De même, en présence de la naloxone, l'effet protecteur de CAJ pour des concentrations allant de 75 à 150 mg/Kg PC, a été réduit de 6,9% à 7,07%, valeurs non significatives

Selon l'analyse statistique. La naloxone réduit les effets protecteurs du tramadol. En revanche, elle ne modifie pas significativement ceux de de l'aspirine et de CAJ, contre la douleur induite par l'acide acétique, chez la souris.

Tableau 1: Activité analgésique des tourteaux de la pomme de cajou sur les contractions abdominales induites par l'injection de l'acide acétique, chez la souris.

Traitements	Nombre de contorsion	Pourcentage d'inhibition (%)
Lot1 : Eau distillée	29	-
Lot2 : Aspirine 75 mg/Kg PC	9	68,96**
Lot3 : Tramadol 15 mg/Kg PC	2	93,10***
Lot4 : CAJ 75 mg/Kg PC	13	55,17**
Lot5 : CAJ 150 mg/Kg PC	6	79,31**

Tableau 2 : Activité analgésique de CAJ en présence du naloxone, sur les contractions abdominales induites par l'injection de l'acide acétique, chez la souris.

Traitements	Nombre de contorsion	Inhibition des contorsions (%)	Réduction des pouvoirs protecteurs
Lot1 : Naloxone + Eau distillée	28	3,44	-
Lot2 : Naloxone + aspirine 75 mg/Kg PC	11	62,06	6,9
Lot3 : Naloxone + Tramadol 15 mg/Kg PC	16	44,82	48,28**
Lot4 : Naloxone + CAJ 75 mg/Kg PC	15	48,27	6,9
Lot5 : Naloxone + CAJ 150 mg/Kg PC	8	72,24	7,07

Activité antipyrétique des tourteaux de la pomme de cajou (CAJ)

L'activité antipyrétique de l'extrait aqueux de CAJ sur la pyrexie induite par injection de la levure de bière dans la région dorsolatérale chez des souris, est représentée à la figure 2. La levure de bière provoque après 18 heures de jeûne, l'augmentation de la température rectale de la souris. Chez la souris témoin, ayant reçue de l'eau distillée comme traitement, la fièvre induite par la levure de bière se maintient au-delà de 38°C pendant plus de quatre heures. En présence de CAJ, pour des concentrations comprises entre 50 et 200 mg/Kg PC, l'hyperthermie induite, suite à l'injection de la levure de bière, diminue pour se maintenir autour de 37°C, au bout de quatre heure de traitement. Ces mêmes effets sont observés avec l'aspirine (AS), la molécule de référence.

Le tableau 4, indique le pourcentage de réduction de l'hyperthermie induite par la levure de bière en présence de CAJ ou de l'aspirine. Cette réduction est de 34,91% pour une concentration de CAJ de 50 mg/Kg PC, après une heure de traitement. Elle est de 44,97% au bout de quatre heures de traitement. Les réductions de la fièvre obtenues avec de fortes concentrations de CAJ, 100 et 200 mg/Kg PC, maximales après deux heures de traitement, sont de 70,66 et 85,13%. Avec l'aspirine, la molécule de référence, à une concentration de 75mg/Kg PC, l'hyperthermie diminue de 77,85%, une heure après traitement. L'inhibition maximale de 78,25 est atteinte au bout de deux heures, à l'image des effets de CAJ. CAJ et AS ont des effets antipyrétiques qui semblent légèrement s'atténués avec plus ou moins une normalisation de la température rectale, au bout de quatre heures

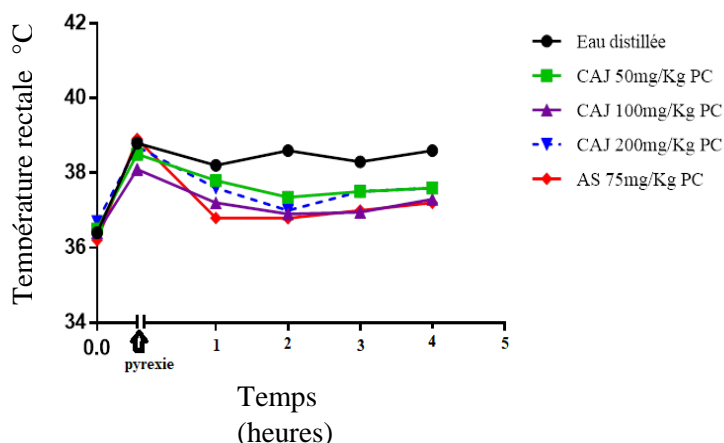


Figure 2 : Activité antipyrétique de l'extrait aqueux des tourteaux de la pomme de cajou (CAJ)

Tableau 4 : Pourcentage de réduction de la pyrexie induite par injection de la levure de bière dans la région dorsolatérale chez la souris, en présence de l'extrait aqueux de CAJ ou de l'aspirine (AS).

Traitement (mg/Kg P.C.)	Réduction de la température (%), après traitement			
	1h	2h	3h	4h
CAJ : 50	34,91±3,4	37,47±4,1	49,90±2,4	44,97±5,5
CAJ : 100	55,10±2,8	70,66±5,3	67,66±4,4	47,10±4,4
CAJ : 200	55,04±1,6	85,13±3,7	60,18±6,3	55,04±7,4
AS : 75	77,85±4,1	78,25±6,4	70,46±3,2	62,95±6,7

DISCUSSION

L'objectif de cette étude est d'évaluer les activités analgésique et antipyrétique d'un extrait aqueux de la pomme de cajou (CAJ).

L'injection de l'acide acétique provoquant des mouvements de contorsions chez la souris, atteste de l'effet algogène de ce produit chimique. Des études précédentes notamment celles de Ouédraogo et al., (2012) et Soro et al., (2009), ont donné des résultats similaires. Il est donc indiqué pour évaluer l'activité analgésique de CAJ. En présence de l'extrait aqueux des tourteaux de la pomme de cajou, les crampes abdominales induites par l'acide acétique chez la souris, diminuent de manière dose-dépendante. Ces mêmes effets antagonistes de la douleur, sont également enregistrés en présence de l'aspirine à 75 mg/Kg PC et le tramadol à 15mg/kg PC. L'extrait aqueux des tourteaux de la pomme de cajou, au vu de ces données, présente des effets analgésiques, au même titre que ces molécules de références, aspirine et tramadol.

Pour caractériser cet effet analgésique de l'extrait aqueux des tourteaux de la pomme de cajou, le test du writhing a été repris en présence de la naloxone un antagoniste morphinique. Cette molécule est sans effet propre, d'autant plus que les résultats du test de writhing réalisé uniquement en sa présence,

rappellent ceux de l'animal témoin, ayant reçu que de l'eau distillée comme traitement. Le tramadol dérivé opiacé, en présence de cet antagoniste morphinique, affiche un effet analgésique réduit de moitié. En revanche, dans les mêmes conditions, l'extrait aqueux des tourteaux de la pomme de cajou et l'aspirine n'ont pas perdu leur pouvoir protecteur contre les douleurs induites par l'acide acétique. Ces résultats suggèrent que l'effet analgésique de cette substance naturelle est de type périphérique. De ce fait, l'extrait aqueux des tourteaux de la pomme de cajou à l'image des salicylés avec pour chef de file l'aspirine, inhiberait les cyclo-oxygénases inductives et ou constitutives (Gupta et al., 2005). Cette inhibition impacterait la libération subséquente des prostaglandines dans le milieu, comme le font remarquer Eschalier A et al., (1990) et Nakamura et al., (1990). Les prostaglandines semblent en effet, produire une vasodilatation, augmenter la perméabilité vasculaire et stimuler la douleur induite par les autres médiateurs de l'inflammation. Des données semblables ont été obtenues par Soro et al., (2009) et Abena et al., (1995) travaillant respectivement sur *Ximenia americana* et *Ageratum Conyzoides*.

La fièvre associée à de nombreuses pathologies explique l'évaluation de l'effet antipyrétique de CAJ. La levure de bière, agent pyrogène provoque, une élévation de la température corporelle chez des souris, après dix-huit heures de jeûne. Injectée dans la zone dorsolatérale, elle induit la formation de pyrogènes endogènes dont l'interleukine 1, la TNF α qui suscitent la production de la prostaglandine dérégulant la physiologie du système thermorégulateur hypothalamique, d'où l'augmentation de la température (Ribeiro et al., 2010 ; 1990, Nakamura H. et al., 1983). Comme les salicylés, l'extrait aqueux de CAJ, diminuant la température rectale des souris, pourrait interférer sur ce mécanisme en inhibant la production de la prostaglandine. CAJ possède donc des effets analgésique et antipyrétique. Des plantes de la pharmacopée agissent selon le même profil thérapeutique. Ce sont *Pterocarpus erinaceus* Poir. (Fabaceae) (Ouedraogo et al., 2012), *Vitex congolensis* De Wild (Okombe et al., 2019), ainsi que *Ximenia Americana* (Soro et al., 2009).

Ces effets antalgique et antipyrétique de CAJ, seraient liés à son contenu phytochimique révélant la présence de saponosides et de flavonoïdes (Dosso et al., 2021). Par ailleurs, cette substance naturelle n'est pas toxique, car sa DL50 est supérieure à 1000mg/Kg PC.

CONCLUSION

L'extrait aqueux des tourteaux de la pomme de cajou, par injection intrapéritonéale est non toxique. Il possède des propriétés analgésique et antipyrétique, liées probablement à son contenu phytochimique, indiquant la présence de saponosides et de flavonoïdes. Ces données pharmacologiques de CAJ, montrent la place que pourrait occuper les agro-ressources dans la consolidation de notre santé, en particulier dans la prise en charge de la douleur et de la fièvre.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abena A. A., Kiborl D. P., Bioka D. 1995. propriétés antalgiques et antipyrétiques de l'huile essentielle d'*Ageratum conyzoides*. *Pharm. Méd. trad. Afro.*, 67-72
- Collier H.O.J., Dinneen L.C., Johnson C.A., Scheider C. 1968. The abdominal contraction response and its suppression by antinociceptive drugs in the mouse, *British J. Pharmacol. Chemother.* 32 : 295–310.
- Corrado B, Marco T, Colucci R, Fornai M, Antonioli L, Ghisu N, Del Tacca M. 2009. Role of coxibs in the strategies for gastrointestinal protection in patients requiring chronic non-steroidal anti-inflammatory therapy. *Pharmacol Res* 59: 90–100
- Dosso M., Niamke A. M., Soro D., Ouattara P. G. H. and Coulibaly A. 2021. Autoregulatory glycemc activity of the aqueous extract of cashew apple cake (*Anacardium occidentale L.*). *JPP*; 10(3) : 56-62
- Eschalier A., Fialip J., Courteix-C. 1990. Pharmacologie des antalgiques antipyrétiques, Aspirine, Paracétamol, Ibuprofène comparaison dynamique cinétique. *Lettre pharmacol*, 4 suppl I : 11-14.
- Gupta M, Mazumder UK, Sambath K R, Gomathi P, Rajeshwar Y, Kakoti BB, Selven VT. 2005. Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic effects of methanol extract from *Bauhinia racemosa* stem bark in animal models, *J. Ethnopharmacol.* 98 : 267–273.
- K. Chira, J.-H. Suh, C. Saucier, P.-L. Teissèdre. 2008 Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie* 6: 75–82
- Nakamura H., Yokoyama Y. Ishii K. 1983. The pharmacological profile of 2-(8 methyl-10, 11 dihydro-11-oxodibenz (b, f) oxepin-2-yl) propionic acid (AD 1590) a new non-steroidal antiinflammatory agent with potent antipyretic activity. *Arzneimittel-forschung.* 1983(33) : 1555 - 1569.
- Okombe EV et Nzuzi MG. 2019. Evaluation de l'activité antipyrétique, analgésique et anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique de *Vitex congolensis* De Wild. & T. Durand. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 13(7): 3066-3078

- Ouédraogo N., Lompo M., Sawadogo R.W., Tibiri A., Hay A.E., Koudou J., Dijoux M.G., Guissou I.P. 2012. Etude des activités anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique des décoctés aqueux des feuilles et des racines de *Pterocarpus erinaceus* Poir. (Fabaceae). *Phytothérapie*. 10:286–292
- R. Koster, M. Anderson, J. De Beer. 1959. Acetic acid for analgesic screening. *Federal Proceeding* (8) : 412–417.
- Ramalawi M., Marti C. Sarasin F. 2013. Intoxication aiguë au paracétamol. *Rev Med Suisse* 9 : 1478-82
- Ribeiro RV, Matos da Silva R, Corsino da Silva JL., Tabajara de Oliveira MD. 2010. Antiinflammatory, antinociceptive and antipyretic effects of hydroethanolic extract from *Macrosiphonia velame* (A. St. Hil.) M. Arg. in animal models, Brazil. *J Pharmaceut Sci*, 46 : 515-23.
- Soro TY , Traore, F., Sakande J .2009. Activité analgésique de l'extrait aqueux de *Ximenia americana* (Linné) (Olacaceae). *C. R. Biologies* 332 : 371–377
- Soro TY, Traoré F, Datte JY, Nene-Bi AS. 2009. Activité antipyrétique de l'extrait aqueux de *Ximenia americana*. *Phytothérapie* 7: 297–303

Nouveau phyllocoumarin glucosylé isolé des racines de *Lannea kerstingii*

Yao-Kouassi Akoua Philomène^{1,3*}, Jean-Michel Kouamé Koffi¹, Zachée Louis Evariste Akissi^{1,2}
Abdulmagid Alabdul Magid², Laurence Voutquenne-Nazabadioko²

1. Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière, 22 BP 582 Abidjan 22, Université Félix-Houphouët Boigny
d'Abidjan-Cocody, Côte d'Ivoire

2. ICMR-UMR CNRS 7312, Groupe Isolement et Structure, Campus Sciences, Bât. 18, BP 1039, 51687 Reims Cedex 2,
France

3. Université de San Pedro, BP V1800 San Pedro, Côte d'Ivoire

Résumé:

Lannea kerstingii est une plante de la famille des anacardiaceae, largement distribuée en Afrique de l'Ouest et particulièrement en Côte d'Ivoire. Elle est utilisée en médecine traditionnelle pour traiter l'anémie, l'ulcère de buruli etc. L'étude de l'extrait acétate d'éthyle des racines de *L. kerstingii* a permis, au moyen de HPLC flash (Phase normale + C-18) et de HPLC préparative et semi-préparative, d'isoler un nouveau phyllocoumarin-3-O- α -L-rhamnopyranoside (**8**) et 8 polyphénols, dont: la catéchine **1**, la catéchin-3-O- α -L-rhamnopyranoside **2**, la catéchin-[7,8-bc]-4 β -(3,4-dihydroxyphényl)-dihydro-2(3H)-pyranone **3**, l'acide-5-O-trans-p-coumaroylquinique **4**, l'acide trans-p-coumarique **5**, la catéchin-[5,6-e]-4 β -(3,4-dihydroxyphényl)-dihydro-2(3H)-pyranone **6**, la catéchin-[5,6-e]-4 α -(3,4-dihydroxyphényl)-dihydro-2(3H)-pyranone **7**, phyllocoumarin **9** and vaccinin A **10**. La structure de ces composés a été déterminée par l'analyse des spectres de la RMN 1D, 2D, et du spectre de masse HR-ESI-MS en comparaison avec les données de la littérature. La phyllocoumarin-3-O- α -L-rhamnopyranoside ainsi que les neuf autres ont été isolés pour la première fois des racines de *L. kerstingii*. La présence de ces composés pourrait expliquer l'usage de cette plante en médecine traditionnelle. Pour la suite des travaux, l'étude de l'activité antioxydante, anti-inflammatoire et anticancéreuse de ces composés est envisagée.

Mots clés: *L. kerstingii* ; phyllocoumarin glucoside.

News phyllocoumarin glucoside from the roots of *Lannea kerstingii*

Abstract:

Lannea kerstingii is a plant of the anacardiaceae family, widely distributed in West Africa and particularly in the Ivory Coast. It is used in traditional medicine to treat anemie, buruli ulcer etc. This work consists in carrying out the chemical study of *L. kerstingii* with a view to its valorization. The study of ethyl acetate extracts from the roots of *L. kerstingii* allowed the isolation of a new phyllocoumarin-3-O- α -L-rhamnopyranoside (**8**) and 8 polyphenols compounds namely catechin **1**, catechin-3-O- α -L-rhamnopyranoside **2**, catechin-[7,8-bc]-4 β -(3,4-dihydroxyphényl)-dihydro-2(3H)-pyranon **3**, 5-O-trans-p-coumaroylquinic acid **4**, trans-p-coumaric acid **5**, catechin-[5,6-e]-4 β -(3,4-dihydroxyphényl)-dihydro-2(3H)-pyranon **6**, Catechin-[5,6-e]-4 α -(3,4-dihydroxyphényl)-dihydro-2(3H)-pyranon **7**, phyllocoumarin **9** and vaccinin A **10**, using HPLC flash (silica normal and C-18) and HPLC preparative and semi-praparative. The structure of these compounds was established by analysis of 1D and 2D NMR spectra, and HR-ESI-MS mass spectrum, in comparison with literature data. This is the first report of the isolation of phyllocoumarin-3-O- α -L-rhamnopyranoside. The nine known compounds were reported for the first time in *L. kerstingii*. The presence of these compounds could explain the use of this plant in traditional medicine. Further studies of the antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of these compounds should be considered.

Keywords: *L. kerstingii* ; phyllocoumarin glucoside.

INTRODUCTION

The genus *Lannea* belongs to the family Anacardiaceae and consists of 77 genera with 600 spesces [1]. Most of them are used to tread several ailments such as ulcers, enteritis, diarrhea, dysentery, malaria, toothaches, blood pressure, rheumatism and diabetes [2, 3, 4]. Some species of *lannea* genus have shown anticancer activity [5, 6, 7]. The chemical investigation of *lannea* genus has led to identification and isolation of various secondary metabolites, including: carbohydrates, alkylphenols, alkylhexanones, flavonoids, tannins; saponins steroid [7, 8, 9, 10] and sesquiterpenoids from essential oils [11].

Lannea kerstingii Engl et K. Krause (anacardiaceae) is a deciduous tree that usually grows from 18 meters tall with a diameter 40 cm [12]. *L. kerstingii* is used in traditional medicine for the treatment of different ailments such as anemia and liver diseases [13, 14, 15]. In West Africa (Ivory Coast, Togo, Benin) *L. kerstingii* is used in traditional medicine to treat buruli ulcer [16]. Nevertheless, very few studies have been carried out on this plant despite its use in several pathologies. Only three isolated

compounds have been reported from the stem bark of *L. kerstingii* [17, 18]. Thus, in this study, we report isolation of new phyllocoumarin glucoside and nine known compounds from the roots of *L. kerstingii*.

MATERIAL AND METHODS

Plant material

L. kerstingii were collected in November 2018 at Flakièdougou (Bondoukou) in the Eastern region of Ivory Coast. The plant was identified at the floristic center of University Felix Houphouët Boigny (Abidjan, Ivory Coast), where a voucher specimen (UCJ 000967) was deposited.

General experimental procedure

NMR experiments were carried out in MeOH-*d*₄ on Bruker Avance DRX III 500 instruments. HR-ESI-MS experiments were performed using a Micromass Q-TOF micro instrument. Analytical TLC was performed on pre-coated silica-gel 60 F₂₅₄ Merck and spots were observed under UV light at 254 and 365 nm or visualized by spraying the dried plates with 50% H₂SO₄, followed by heating. CC was carried out on Kieselgel 60 (63-200 mesh). Extracts were fractionned first on vaccumm liquid chromatography (VLC). HPLC was performed on a Dionex apparatus equipped with an ASI-100 autosampler, an Ultimate 3000 pump, a diode array detector UVD 340S and Chromeleon software. Interchim column (C₁₈-HQ, 5 μm, 250 x 10 mm) was used for semi-preparative HPLC or preparative HPLC (PLC) with binary gradient eluent (H₂O (filtered at 0.22 with TFA); CH₃CN) and a flow rate of 4 mL/min in semi-preparative HPLC and 20 mL/min in PLC ; the chromatogram was monitored at 205, 210, 254 and 365 nm.

Extraction and isolation

Coarsely powdered roots (1.5 Kg) of *L. kerstingii* was exhaustively extracted with 15 L of the mixture methanol/H₂O (80/20). The hydromethanolic extract was dissolved in H₂O (500 mL) and the mixture serially extracted with cyclohexan and ethyl acetate (2x500 mL). The ethyl acetate fraction was dried under low temperature and pressure to obtain 16.0 g. This extract was separated on VLC C-18 (10 cm x 5 cm) eluting with EtOAc/MeOH/H₂O gradient to yield 5 fractions (AE-1 to AE-5).

Fraction AE-1 (3.59 g) was subjected to flash chromatography on normal silica with DCM/MeOH/H₂O (90/10/0; 70/30/5; 60/40/7) to give 12 fractions (F1 to F12).

Fraction F4 (77.8 mg) was purified by preparative PLC with H₂O/acétonitrile (CH₃CN) (15 to 25% of CH₃CN) as the mobile phase to afford compound **1** (3.20 mg).

Fractions 5 and 6 combined (180.7 mg) was chromatographed on normal silica with Toluène/AcOEt/MeOH/H₂O (50/50/0/0; 50/30/20/0; 0/77/13/10) to give 8 sub-fractions. Sub-fractions 5 (23.34 mg) was purified on preparative PLC eluted with H₂O/CH₃CN (15 to 25% of CH₃CN) to afford compounds **2** (Rt 19.49 min, 10.0 mg) and **3** (Rt 19.51 min, 2.8 mg).

Fractions 11 (68.8 mg) was purified on semi-prep HPLC eluted with H₂O/ CH₃CN gradient to give compounds **4** (Rt 19.19 min, 2.30 mg).

Fraction AE-3 (7.30 g) was subjected to flash chromatography on normal silica with DCM/MeOH/H₂O (90/10/0; 70/30/0; 70/30/5) which gave 6 fractions.

Fraction 1 (544 mg) was purified using preparative PLC with H₂O/acétonitrile (CH₃CN) (15 to 30% of CH₃CN) as the mobile phase to afford compounds **5** (Rt = 19.50 min, 1.2 mg), **6** (Rt 19.59 min, 5.0 mg) and **7**, (Rt = 19.63 min, 5.0 mg).

Fraction 3 (708.9 mg) was purified using preparative PLC with H₂O/acétonitrile (CH₃CN) (15 to 30% of CH₃CN) as the mobile phase to afford compounds **8** (Rt = 19.78 min, 1.4 mg)

AE-4 extract (100 mg) was purified on semi-preparative HPLC eluted with H₂O/CH₃CN (15 to 25% of CH₃CN) to yield compounds **9** (Rt 19.48 min, 1.2 mg) and **10** (Rt 19.52 min, 7.5 mg).

RESULTS AND DISCUSSION

Characterization of isolated molecules

The structures of the compounds were established using a combination of HR-ESI-MS and NMR spectroscopy, and comparing the spectral data with literature. In exception of compound **8**, all the other compounds including catechin **1**, catechin-3-O- α -L-rhamnopyranoside **2** [19, 20], catechin-[7,8-bc]-4 β -(3,4-dihydroxyphenyl)-dihydro-2(3H)- pyranon **3** [21, 22], 5-O-*trans*-*p*-coumaroylquinic acid **4**, *trans*-*p*-coumaric acid **5**, catechin-[5,6-e]-4 β -(3,4-dihydroxyphenyl)-dihydro-2(3H)-pyranon **6**, catechin-[5,6-e]-4 α -(3,4-dihydroxyphenyl)-dihydro-2(3H)- pyranon **7** [22], phyllocoumarin **9** [21] and vaccinin A **10** [23] had been reported in the literature as referenced. The compounds isolated are mostly catechin as

the basic skeleton. Catechins are known for their many biological properties on human health such as anti-oxidant, anti-microbial, anti-viral, anti-inflammatory, anti-allergenic, and anti-cancer activities [24].

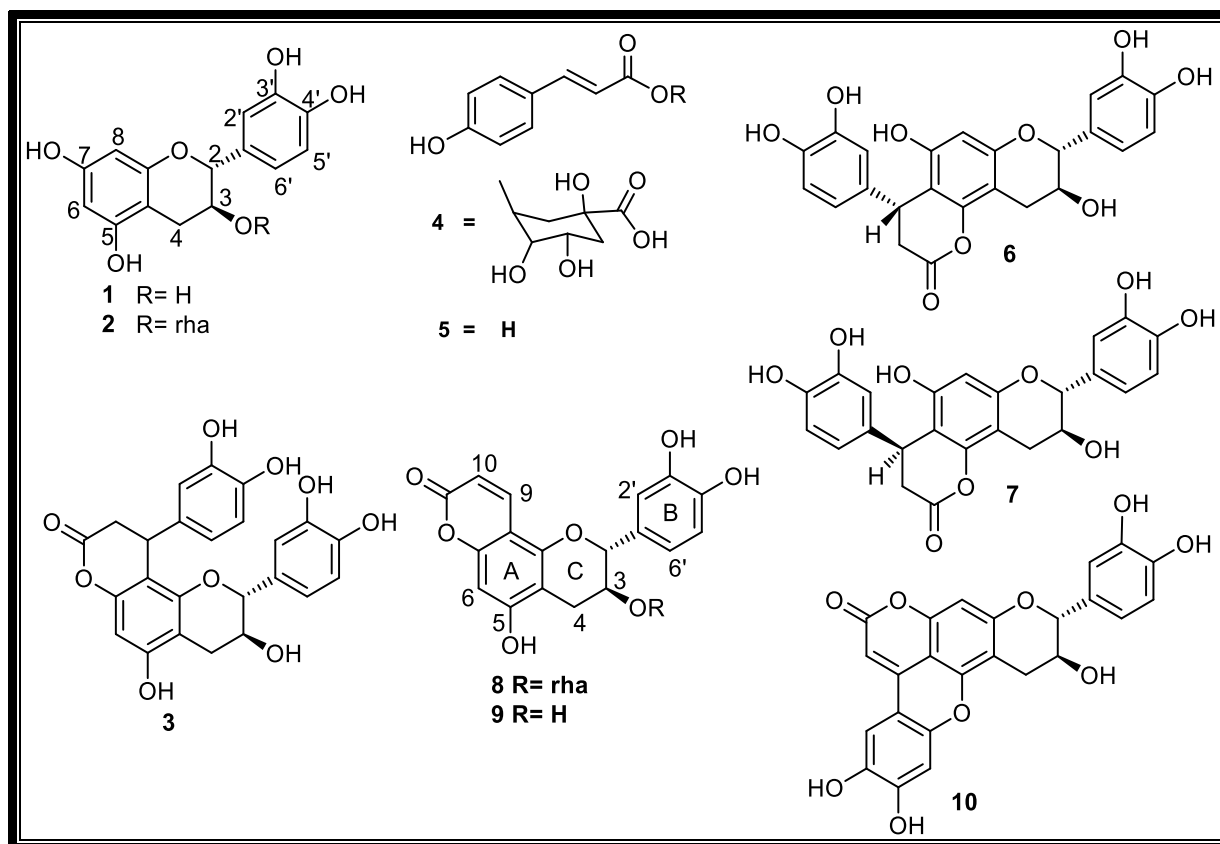


Figure 1 : Isolated compounds from the roots of *L. kerstingii*.

Compound 8

Compound **8** was obtained as an amorphous powder. $[\alpha]_D^{20}$ was -37.80 (c 0.737, MeOH).

The molecular formula was established as $C_{24}H_{24}O_{11}$ based on HR-ESI-MS and NMR data. The HR-ESI-MS in negative-ion mode showed a peak at m/z 487.1240 [M-H], (calcd. for $C_{24}H_{24}O_{11}$ [M-H], 487.1248) corresponding to the molecular formula $C_{24}H_{24}O_{11}$. The IR (ν^{KBr} , cm^{-1} : 1693), UV (λ_{max}^{MeOH} nm (log ϵ): 208, 289 and 332) and NMR spectra of compound **8** indicated the presence of a coumarin nucleus [20]. The structure of compound **8** was deduced from that of the known flavanocoumarin (compound **9**) [20]. The 1H -NMR spectrum (Table 1) showed the presence of catechin and coumarin moieties. The 1, 2, 4- trisubstituted benzene ring (Ring B) of three aromatic signals typical of ABX spin system, obviously included the double doublet at δ_H 6.75 ($J = 8.2$ and 1.9 Hz, H-6'), coupling in *ortho* with a doublet at δ_H 6.80 ($J = 8.0$ Hz, H-5') and in *mêta* with another doublet at δ_H 6.85 ($J = 1.9$ Hz, H-2'). The pyran ring (ring C) was characterised by the presence of multiplet at 4.12 ppm (H-3), which coupled with a doublet at 4.99 ppm ($J = 7.0$ Hz ; H-2) and two double doublets at 2,92 ($J = 16.5$ and 5.3 Hz ; H-4b) and 2,85 ppm ($J = 16.5$ and 7.5 Hz ; H-4a). The presence of only one single signal at 6.39 ppm (H-6) showed that the ring A was pentasubstituted. A pair of double doublets at δ_H 8.09 ($J = 9.6$ Hz ; H-9) and δ_H 6.11 ($J = 9.5$ Hz ; H-10) was attributed to pyrone ring protons of coumarin moiety. The 1H -NMR spectrum also exhibited a doublet at δ_H 4.47 ($J = 1.2$ Hz ; H-1''), attributed to an anomeric proton of α -L-rhamnopyranose (Table 1) by COSY and NOESY spectrum analysis. The link between the sugar and the pyran ring was showed from HMBC correlation through the cross-peak between H-1'' (4.47 ppm) and C-3 (75.7 ppm) (Fig. 1). Furthermore, the downfield shift of C-3 at δ_C 75.7 ppm of compound **8** compare to that of compound **9** (C-3 at 67.5 ppm) (Table 1) confirmed the attachment of sugar at C-3 in compound **8**. Accordingly, compound **8** was assigned as phyllocoumarin-3-O- α -L-

rhamnopyranoside. To the best of our knowledge and according to the available literature, compound **8** (Fig. 1) is a new compound isolated for the first time from *L. kerstingii*.

Table 1: ¹H (500 MHz) and ¹³C (125 MHz) NMR spectroscopic data of **8** and **9** in CD₃OD

Comp	8		9	
	δ_{H} m (J in Hz)	δ_{C}	δ_{H} m (J in Hz)	δ_{C}
Aglycone	-	-	-	-
2	4.99 d (7.0)	82.5	4.99 d (7.0)	82.5
3	4.12 m	75.7	4.15 m	67.5
4a	2.85 dd (16.5 ; 7.5)	27.8	2.85 dd (16.5 ; 7.5)	25.4
4b	2.92 dd (16.5 ; 5.3)	27.8	2.92 dd (16.5 ; 5.3)	25.4
5	-	161.6	-	161.6
6	6.39 s	94.1	6.39 s	94.1
7	-	157.2	-	157.2
8	-	105.8	-	105.8
9	8.09 d (9.6)	139.5	8.09 d (9.6)	139.5
10	6.11d (9.5)	108.8	6.11d (9.5)	108.8
11	-	164.7	-	164.7
12	-	-	-	-
13	-	153.1	-	151.1
14	-	102.9	-	102.9
1'	-	129.5	-	129.5
2'	6.85 d (1.9)	113.2	6.85 d (1.9)	113.2
3'	-	145.2	-	145.2
4'	-	145.0	-	145.0
5'	6.80 d (8.0)	114.8	6.80 d (8.0)	114.8
6'	6.75 dd (8.2 ; 1.9)	118.0	6.75 dd (8.2 ; 1.9)	118.0
<i>α-L-rhamnopyranose</i>				
1''	4.47 d (1.2)	103.8	-	-
2''	3.59 m	73.1	-	-
3''	3.57 dd (9.4 ; 3.3)	74.7	-	-
4''	3.35 t (9.3)	72.4	-	-
5''	3.64 dd (9.5 ; 6.2)	69.0	-	-
6''	1.12 d (6.38)	16.5	-	-

Conclusion

This study is part of valorisation of Ivory coast medicinal plants. Few details studies were traced on the chemical composition of *L. kerstingii*. A study of the roots of this plant has been investigated. Ten compounds including a new phyllocoumarin-3-*O*- α -L-rhamnopyranoside were isolated. Eight of the isolated compounds were derivated from catechin. For our knowledge, these molecules are isolated for the first time from the roots of *L. kerstingii* and their presence could explain the different biological activities of this plant.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to ICMR-UMR7312 CNRS, University of Reims Champagne-Ardenne (France) for giving work material and Ministry of Higher Education and Scientific Research of Côte d'Ivoire for scholarship award.

REFERENCES

- [1]. Kpemissi-Amana E. (2007) Les Anacardiaceae du Togo: Etudes botaniques, écologiques et propriétés antifongiques, *In Sciences pharmacautiques*. Université de Reims Champagne-Ardenne et Université de Lomé ; p. 198.
- [2]. Joseph E. M. T ; Jean R. C. ; Nkeng-Efouet-Alango P. ; Leon A. T. ; Norbert S. (2017) Furan derivatives from *Lannea kerstingii*. *Phytochem. Lett.* ; 20 : 282-284.
- [3]. Bharti M. ; Kanchan K. ; Saifu R. (2021) Review of Medicinal Uses, Phytochemistry, Pharmacological Properties, Extraction Methods and Toxicology of *Lannea microcarpa* (African Grapes). *Curr. Tradit. Med.*, 7(1) : 1-14.
- [4]. Fahadul I. ; Saikat M. ; Mohamed H. N. ; Mohammad T. R. ; Vineet T. ; Aklima A. ; Talha B. E. ; Amany A. R. M. ; Ali A. and Sanad S. El-K. (2022), Neuropharmacological and Antidiabetic Potential of *Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr. Leaves Extract: An Experimental Analysis, *Hindawi Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Volume 2022*, Article ID 6144733, 10 pages
- [5]. Florence N. M. ; Steven B-C. ; Adaobi C. E. ; Chukwuemeka S. N. ; Patrick J. B. (2020) Pharmacological Evaluation of the Anticancer Activity of Extracts and Fractions of *Lannea barteri* Oliv. (Anacardiaceae) on Adherent Human Cancer Cell Lines. *Molecules*, 25 : 84-89.
- [6]. Sivaraj C. ; Pavithra B. ; Akshaya S. ; Arumugam P. (2018) GC-MS analysis, antibacterial and anticancer activities of bark extract of *Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr. *Int. J. Pharm. Sci. Res.*, 9(7): 3047-3051.
- [7]. Md. Jakir H. ; Shashwata B. ; Mohammad S. ; Maisha M. C. ; Sohidul I. ; Chowdhury R. A. (2018), Phytochemical Screening, Antimicrobial Activity, Antioxidant Capacity And *In Vivo* Anticancer Activity Of *Lannea Coromandelica* Bark Extracts. *Int. J. Pharm. Biol. Sci.*, 13 (3) : 19-25.
- [8]. Ibrahim S. (2015), Phytochemical And antibacterial Studies on the Stem Bark of *Lannea barteri*. (Oliv.) Engl. (Anacardiaceae). Department of pharmacognosy and drug development, Faculty of pharmaceutical sciences, Ahmadu Bello University, Zaria. p.103.
- [9]. Edewor T. I. ; Kazeem N. O. ; Owa S. O. (2016), Gas chromatography-mass spectrometric analysis of methanolic leaf extracts of *Lannea kerstingii* and *Nauclea diderrichii*, two medicinal plants used for the treatment of gastrointestinal tract infections. *Asian J. Pharm. Clin. Res.*, 9(4) : 179-182.
- [10]. Hasan M. H. M. (2013), Chemical constituents from the bark of *Lannea acida* Rich (Anacardiaceae). *Der Pharma Chem.*, 5(5): 88-96.
- [11]. Akintayo L. O. ; Tolulope E. ; Olubunmi J. S. ; Moses S. O. ; Noura S. D. ; William N. S. (2021), Antimicrobial Activities of Sesquiterpene-Rich Essential Oils of two Medicinal Plants, *Lannea egregia* and *Emilia sonchifolia*, from Nigeria. *Plants*, 10, p. 488.
- [12]. Jansen P. C. M. (2005). *Lannea barteri* (Oliv.) Engl. : *Dyes and tannins*, Netherlands: PROTA, Wageningen, Pp. 345-346.
- [13]. Kpodar M. S. ; Karou S. D., Katawa G. ; Anani K., Gbekley H. E. ; Adjrah Y. ; Tchacondo T. ; Batawila T. ; Simpore J. (2016), An ethnobotanical study of plants used to treat liver diseases in the maitime region of Togo, *journal of Ethnopharmacology* 181, pp : 263-273.
- [14]. Komlan B. ; Dodji A. ; Kouami K. ; Bruno D. F. ; Annick D. ; Philippe B. ; Koffi A. (2007), Quelques données ethnobotaniques sur la flore togolaise, *Acta Botanica Gallica*, 154:3, 407-422.
- [15]. Allabi, A.C. ; Busia, K. ; Ekanmian, V. ; Bakiono F. (2011). The use of medicinal plants in self-care in the Agonlin region of Benin. *Journal of Ethnopharmacology* 133, pp.234 and *Ecology* 35, 539-543.
- [16]. Yemoa A. L. ; Gbenou J. D., Johnson R. C. ; Djego J. G. ; Zinsou C. ; Moudachirou M. ; Quetin-Leclercq ; Bigot A. ; Portaels F. (2008), *Ethnopharmacologia*, n°42, pp : 48-55.
- [17]. Njinga N.S. ; Sule M.I. ; Pateh U.U. ; Hassan H.S. ; Abdullahi S.T. ; Ache R.N. (2016), Isolation and Antimicrobial Activity of β -Sitosterol-3-Oglucoside from *Lannea Kerstingii* Engl. & K. Krause (Anacardiaceae), *Nitte University Journal of Health Science*, vol:6, pp 4-8.
- [18]. Joseph E. M. T. ; Jean R. C. ; Pépin N. E. A. ; Leon A. T. ; Norbert S. (2017), Furan derivatives from *Lannea kerstingii*, *Phytochemistry Letters* 20, pp 282-284.
- [19]. Kim J. E. ; Kim S. S. ; Hyun C. G. ; Lee N. H. (2012), Antioxidative chemical constituents from the stems of *Clereya japonica* Thunberg, *International journal of pharmacology*, 8(5) : 410-415.
- [20]. Bonfeld M. ; Hilmar F. ; Herbert K. (1986), (+)-catechin irhamnoside from *erythroxyllum novogranatense*, *Phytochemistry*. Vol 25. No 5. pp. 1205-1207.
- [21]. Foo L. Y. (1989), Flavanocoumarins and Flavanophenylpropanoids From *Phyllocladus trichomanoides*, *Phytochemistry*, Vol. 28, No. 9, pp. 2477-2481.
- [22]. Chen H. F. ; Takashi T. ; Gen-Ichiro N. ; Toshihiro F. ; Kunihide M. (1993), Phenylpropanoid-Substituted Catechins from *Castanopsis hystrix* and structure revision of cinchonans, *Phytochemistry*, Vol. 33, No. 1, pp. 183-187.
- [23]. Yosuke M. ; Yusuke F. ; Sachiko O. ; Takashi T. ; Hideaki H. ; Takanori K. ; Hiroshi S. ; Shoko N. ; Isao K. (2010), Chemical constituents of the leaves of *rabbiteye blueberry* (*Vaccinium ashei*) and characterisation of

polymeric proanthocyanidins containing phenylpropanoid units and A-type linkages, *Food Chemistry* 121, pp.1073-1079.

[24]. [Joonseo B.](#) ; [Nayoung K.](#) ; [Yunyoung S.](#) ; [Soo-Yeon K.](#) ; [You-Jeong K.](#) (2020), Activity of catechins and their applications, *Biomedical Dermatology*, 4:8 pp. 1-10 <https://doi.org/10.1186/s41702-020-0057-8>

**ACTIVITE ANTI-PYRETIQUE DE L'EXTRAIT AQUEUX D'ECORCE DE TIGE DE
PSEUDOCEDRELA KOTSCHYI (SCHWEINF.) HARMS (MELIACEAE)**

Tianga Yaya Soro, Coulibaly Sirabana, Mian Jean Claude
tiangaso@yahoo.fr, coulibalysirabana@yahoo.fr, claudemianjean@gmail.com

UFR Biosciences, Laboratoire Biologie Santé Université Félix Houphouët Boigny Côte d'Ivoire
22 BP 34 Abidjan 22 Côte d'Ivoire

Résumé

L'écorce de tige de *Pseudocedrela kotschyi* est utilisée traditionnellement par les populations des régions subsahariennes pour soigner la fièvre.

L'objectif principal de cette étude est de déterminer les constituants phytochimiques à potentialité pharmacologique, la toxicité et l'activité antipyrétique de l'extrait aqueux d'écorces de tige de *Pseudocedrela kotschyi*.

L'étude comparée de l'extrait aqueux d'écorces de tige de *Pseudocedrela kotschyi* avec l'acétylsalicylate de lysine sur l'hyperthermie induite chez le rat par la levure de bière a révélé les propriétés antipyrétiques de cet extrait.

Les méthodes standards utilisées pour l'analyse qualitative des constituants phytochimiques ont révélé la présence d'alcaloïdes, de flavonoïdes, de tanins catéchiques, de saponosides, de polyphénols, de quinones, de terpenoïdes, d'oses et holosides tandis que les coumarines et les tanins galliques sont absents.

L'étude toxicologique de l'extrait aqueux d'écorces de tige de *Pseudocedrela kotschyi* a permis de déterminer une $DL_{50} = 240$ mg/kg P.C de poids corporel. Selon la classification de Diezi (1989), cette plante est moyennement toxique par voie intrapéritonéale.

Ces résultats justifient l'utilisation traditionnelle des écorces de *Pseudocedrela kotschyi* contre la fièvre.
Pseudocedrela kotschyi-Acétylsalicylate de lysine-Antipyrétique

**ANTI-PYRETIC ACTIVITY OF AQUEOUS EXTRACT OF *PSEUDOCEDRELA KOTSCHYI*
(SCHWEINF.) HARMS STEM BARK (MELIACEAE)**

Abstract

The bark of *Pseudocedrela kotschyi* is traditionally used by people in sub-Saharan regions to treat fever. The main objective of this study is to determine the antipyretic activity, phytochemical constituents with pharmacological potential and toxicity of the aqueous extract of *Pseudocedrela kotschyi* stem bark.

The comparative study of the aqueous extract of *Pseudocedrela kotschyi* stem bark with lysine acetylsalicylate on brewer's yeast-induced hyperthermia in rats revealed the antipyretic properties of this extract.

The standard methods used for the qualitative analysis of phytochemical constituents revealed the presence of alkaloids, flavonoids, catechic tannins, saponosides, polyphenols, quinones, terpenoids, oses and holosides while coumarins and gall tannins are absent.

The toxicological study of the aqueous extract of stem bark of *Pseudocedrela kotschyi* determined an $LD_{50} = 240$ mg/kg P.C.

According to the classification of Diezi (1989), this plant is moderately toxic by the intraperitoneal route.

These results justify the traditional use of *Pseudocedrela kotschyi* bark against fever.

INTRODUCTION

Pseudocedrela kotschy (Schweinf.) Harms (Meliaceae) ou cèdre de zone sèche [18] est un arbre long qui peut atteindre une hauteur de 20 m avec une écorce grisâtre et fissurée

Pseudocedrela Kotschy est l'un des plus grands arbres de la Savane. Il est irrégulièrement repartit dans les savanes arbustives ou boisées soudaniennes. Là où il existe, il forme des peuplements du fait de son aptitude à drageonner [13].

Elle est utilisée dans les régions subsahariennes pour guérir plusieurs maladies [14]. Cette plante est utilisée pour soigner les maux de dents, de ventre, le paludisme, la gale et le pian.

Le criblage phytochimique de l'extrait aqueux d'écorces de tige de *Pseudocedrela kotschy* a révélé la présence d'alcaloïdes, de flavonoïdes, de tanins catéchiques, de saponosides, de polyphénols, de terpenoïdes, de quinones, de composés réducteurs, d'oses et holosides dans cet extrait.

La présente étude a pour objectif d'évaluer les propriétés antipyrétiques de l'extrait aqueux de *Pseudocedrela kotschy* afin de clarifier son utilisation ethnopharmacologique.

MATERIEL ET METHODES

MATERIEL

Matériel végétal

Nous avons utilisé le lyophilisat de l'extrait aqueux infusé des écorces de tige de *Pseudocedrela kotschy* (Meliaceae).

L'espèce végétale a été authentifiée à l'herbier du Centre National de Floristique (CNF) de l'Université Felix Houphouët-Boigny par le n°8664.

Les écorces récoltées sont séchées puis broyées la poudre obtenu est utilisée pour préparer notre extrait aqueux.

Matériel animal

L'étude de l'activité antipyrétique est réalisée sur des rats mâles et femelles de l'espèce *Rattus norvegicus*, de souche Wistar. Ces rats pèsent entre 180 et 250 g.

Les souris sont de l'espèce *Mus musculus* et de souche *Swiss*. Elles appartiennent aux deux sexes. Leur poids est compris entre 20 et 30 g.

Extrait, solvants et réactifs chimiques

-Le lyophilisat d'extrait aqueux d'écorces de tige de *Pseudocedrela kotschy* est employé dans nos expériences pour réduire l'hyperthermie induite par la levure de bière chez le rat.

-L'eau distillée est utilisée pour l'extraction.

-La solution de NaCl à 9 ‰ sert à diluer le lyophilisat d'écorces de *Pseudocedrela kotschy* et l'acétylsalicylate de lysine.

- l'acétylsalicylate de lysine a été utilisé comme antipyrétique de référence.

La suspension aqueuse de levure de bière à 20% est employée pour induire l'hyperthermie chez le rat.

Appareillage

-Un agitateur magnétique (type RCT basic Kika Laborstechnik) sert à infuser l'écorce de *Pseudocedrela kotschy*.

-Un lyophilisateur (type serial) est employé pour lyophiliser le décocté aqueux d'écorces de *Pseudocedrela kotschy*.

-Un thermomètre à infrarouge sert à prendre la température corporelle des rats.

Méthodologie

Cent cinquante (150) grammes de poudre d'écorce de tige de *Pseudocedrela kotschy* sont prélevés et mis dans un bocal de 5 litres. On y ajoute trois litres d'eau distillée chauffée à 100°C. Ce mélange est agité pendant 24 heures grâce à un agitateur magnétique.

La solution est ensuite filtrée sur un coton hydrophile. Le filtrat obtenu est lyophilisé à l'aide d'un lyophilisateur (type SERIAL). Le lyophilisat est une poudre brune claire de 20 % de rendement.

Méthode d'étude de l'activité antipyrétique

L'évaluation de l'activité anti-pyrétique de l'extrait aqueux de *Pseudocedrela kotschy* a été réalisée selon la méthode décrite par Teotino et al.

Les rats ont été choisis pour l'expérience après la confirmation de leur température constante approximativement pendant 4 jours. La température de chaque rat a été mesurée au temps 0h (avant

l'injection de la levure de bière). Les rats ont reçu, par voie sous-cutanée dans la région dorsolatérale, une suspension aqueuse de levure de bière à 20%, à raison de 1ml pour 100 g de poids corporel. Ensuite, les animaux ont été mis à jeun. Seize (16) heures après, la température a été prise de nouveau chez chaque rat et des lots de six rats ont été constitués avec des rats présentant une augmentation de température d'au moins 0,7°C.

Lot 1 : Solution physiologique NaCl à 9 ‰ à raison de 0,1 ml/10 g (Témoin).

Lot 2 : acétylsalicylate de lysine = 200 mg/kg de poids corporel (PC) [AL 200 mg/kg]

Lot 3 : Extrait aqueux de *Pseudocedrela kotschy* = 150 mg/kg de P.C

Lot 4 : Extrait aqueux de *Pseudocedrela kotschy* = 200 mg/kg de P.C

La prise de température corporelle a été effectuée 30 mn, 1, 2, 3 et 4 heures après l'administration des substances à l'aide d'un thermomètre à infrarouge.

Résultats

Le tableau 1 représente la variation de la température provoquée par l'extrait aqueux de *Pseudocedrela kotschy* (Pk) et l'acétylsalicylate de lysine sur l'hyperthermie induite chez le rat par la levure de bière.

La figure 1 représente le pourcentage de réduction de l'hyperthermie induite par ces substances.

L'acétylsalicylate de lysine à la dose de 200 mg/kg PC et l'extrait aqueux de *Pseudocedrela kotschy* aux doses de 150 et 200 mg/kg PC. Réduisent l'hyperthermie.

La baisse de la température induite par l'extrait aqueux de *Pseudocedrela kotschy* à la dose de 200 mg/kg PC est supérieure à celle induite par l'acétylsalicylate de lysine à la même dose. Par contre celle induite par l'acétylsalicylate de lysine à la dose de 200 mg/kg PC est légèrement supérieure à celle de l'extrait aqueux de *Pseudocedrela kotschy* à la dose de 150 mg/kg PC. Ces différentes substances induisent une réduction de l'hyperthermie à partir de 0,5 h. Par ailleurs le maximum de réduction pour ces différentes substances a été obtenu à la 3^{ème} heure après leur administration.

Le screening phytochimique de l'extrait aqueux des écorces de tige de *Pseudocedrela kotschy*, par des réactions qualitatives de caractérisation, a révélé la présence de différents groupes de métabolites à potentialité pharmacologique tels que des alcaloïdes, des flavonoïdes, des tanins catéchiques, des saponosides, des polyphénols, des quinones, des terpenoïdes, des oses et holosides.

Juste après injection des différentes doses comprises entre 100 et 500 mg/kg P.C, les souris présentent des symptômes graves tels que:

-l' accélération de la respiration et du rythme cardiaque.

-Fortes convulsions et agitations.

-Des déplacements fréquents suivis de torsion du corps.

Secondairement, l'activité des animaux se réduit, leur démarche devient lente et la mort survient à partir de la 15^{ème} min jusqu'à la 6^{ème} heure pour des doses de 150 mg/kg P.C et plus. Après 24 heures, les animaux survivants ont retrouvé un comportement normal comparable à celui des témoins.

L'étude de la toxicité aiguë de l'extrait aqueux de *Pseudocedrela kotschy* par voie intrapéritonéale a permis de calculer les valeurs de la DL50 chez les souris. Celle-ci est de 230,08 mg/kg P.C et de 240 mg/kg P.C respectivement par la méthode graphique et la méthode par le calcul. Ces deux valeurs sont assez proches, ce qui démontre la fiabilité des méthodes de détermination.

Tableau 1: Variation de la température provoquée par l'extrait aqueux de *Pseudocedrela kotschy* (Pk) et l'acétylsalicylate de lysine sur l'hyperthermie induite chez le rat par la levure de bière.

Produits	Diminution de la température corporelle (°C)					
	Avant traitement	0,5 h	1 h	2 h	3 h	4 h
Témoin (Nacl)	39,2 ± 0,04	-0,05± 0,03	-0,15± 0,06	-0,27± 0,09	-0,3± 0,07	-0,35± 0,09
Pk 200 mg/kg	39,2 ± 0,05	-1,65± 0,01	-1,8± 0,1	-1,99± 0,03	-2,14± 0,01	-2,07± 0,02
Pk 150 mg/kg	39,23 ± 0,03	-1,4± 0,01	-1,52± 0,03	-1,69± 0,01	-1,79± 0,02	-1,71± 0,02

AL 200 mg/kg	39,25 ± 0,02	-1,5 ± 0,02	-1,6 ± 0,01	-1,76 ± 0,03	-1,86 ± 0,03	-1,77 ± 0,06
-------------------------	-----------------	-------------	-------------	--------------	--------------	-----------------

Les valeurs représentent la moyenne ± SEM (erreur standard sur le pourcentage moyen); n=7 pour chaque groupe.

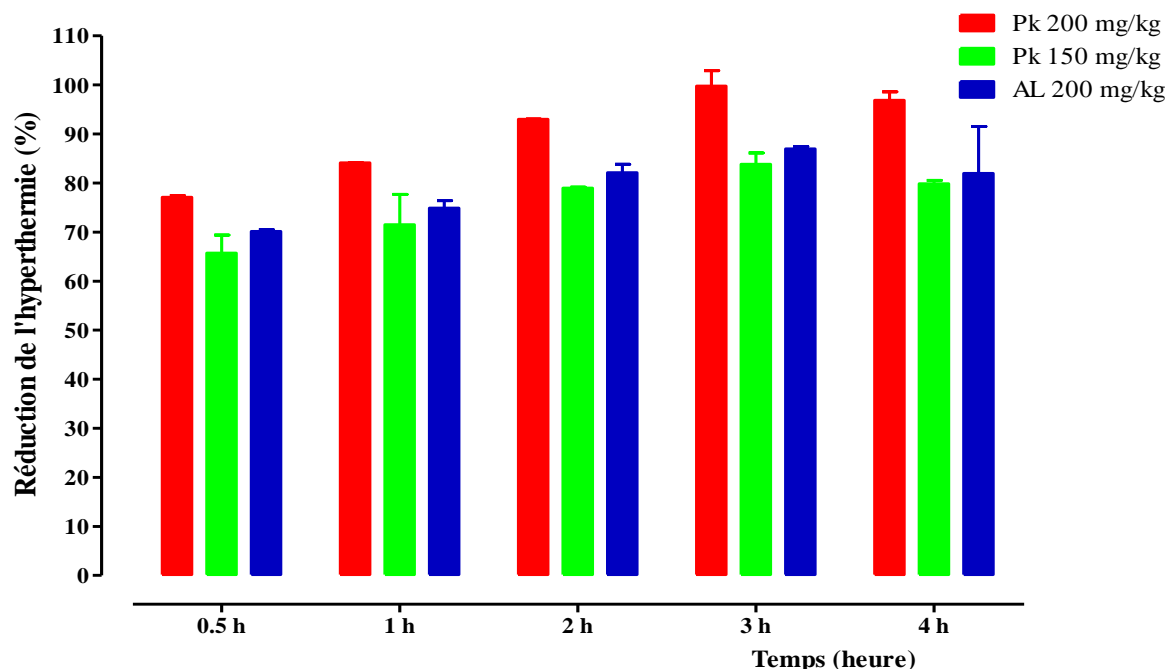


Figure 1 : Activité antipyrétique : relation effet-temps de l'extrait aqueux de *Pseudocedrela kotschy* et de l'acétylsalicylate de lysine sur l'hyperthermie induite chez le rat par la levure de bière. Les valeurs représentent le pourcentage moyen ± SEM (erreur standard sur le pourcentage moyen) de réduction de l'hyperthermie, après 0,5, 1, 2, 3 et 4 heures, induite par l'acétylsalicylate de lysine à la dose de 200 mg/g de PC. Et par *Pseudocedrela kotschy* aux doses de 150 et 200 mg/kg de PC chez le rat, n=7 pour chaque groupe.

DISCUSSION

L'objectif de cette étude est de déterminer les activités antipyrétiques de l'extrait aqueux d'écorces de tige de *Pseudocedrela kotschy*.

L'activité antipyrétique a été évaluée en injectant à des rats de la levure de bière à 20% dans la région dorsolatérale. Cette injection provoque une hyperthermie chez les rats.

L'injection de la levure de bière à 20% provoque une élévation de la température chez les rats. Cette élévation est liée à la libération des cytokines (TNF- α , IL-1, IL6...) qui ayant atteint les vaisseaux sanguins stimulent la biosynthèse des prostaglandines aux environs du centre hypothalamique thermorégulateur.

Les extraits aqueux de *Pseudocedrela kotschy* et l'acétylsalicylate de lysine ont réduit l'hyperthermie provoquée par l'injection de la levure de bière.

Le maximum de réduction de l'hyperthermie pour ces différentes substances obtenu à la 3^{ème} heure après leur administration peut s'expliquer par le fait que certains composants phytochimiques doivent subir des transformations avant de pouvoir être capable de réaliser leur activité antipyrétique. Ce qui indique clairement que l'extrait aqueux d'écorces de tige de *Pseudocedrela kotschy* contient des composants bioactifs qui sont capables d'inhiber la biosynthèse des prostaglandines.

Le criblage phytochimique de l'extrait aqueux de *Pseudocedrela kotschy* a mis en évidence les composés suivants : des alcaloïdes, des flavonoïdes, des tanins catéchiques, des saponosides, des polyphénols, des quinones, des terpenoïdes, des composés réducteurs, des oses et holosides. Ces mêmes composés chimiques ont été mis en évidence par Adeniyi et al. ; Alhassan et al. et Bothon et

al. avec respectivement l'extrait méthanolique de l'écorce de tige, l'extrait aqueux des racines et l'extrait méthanolique de *Pseudocedrela kotschyi*. Certains composants phytochimiques de l'extrait aqueux de *Pseudocedrela kotschyi* tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les composés phénoliques et les saponosides et les terpenoïdes ont des actions antipyrétiques. Ils sont ainsi capables d'empêcher la production des prostaglandines et ou d'augmenter la synthèse de composants antipyrétiques en inhibant les cyclooxygénases. Les alcaloïdes, les tanins et les terpenoïdes inhibent la synthèse des prostaglandines alors que les flavonoïdes inhibent la peroxydation de l'acide arachidonique et supprime le tumor necrosis factor α . Tumor necrosis factor α stimule la synthèse de la PGE2 qui provoque la fièvre. L'activité antipyrétique des flavonoïdes résulte en la suppression du TNF α . Ils entraînent aussi la réduction de la quantité des prostaglandines en inhibant la peroxydation de l'acide arachidonique.

Des études antérieures ont montré que les alcaloïdes ont une activité antipyrétique. Les alcaloïdes isolés de *Hunteria zeylanica* ont montré une activité antipyrétique lors d'expériences sur des animaux. Les saponosides inhibent la cyclooxygénase et la phospholipase A2 qui entraînent la fièvre. Une étude antérieure a montré que l'activité antipyrétique de l'extrait éthanolique d'*Asparagens racemosus* est due à la présence de saponosides.

L'étude de la toxicité aiguë de l'extrait aqueux de *Pseudocedrela kotschyi* par voie intrapéritonéale a permis de calculer les valeurs de la DL50 chez les souris. Celle-ci est de 230,08 mg/kg P.C et de 240 mg/kg P.C respectivement par la méthode graphique et la méthode par le calcul.

Selon la classification de Diezi, une substance pharmacologique dont la DL50 est inférieure à 5 mg/kg P.C est dite très toxique. Celle dont la DL50 est comprise entre 5 et 50 mg/kg P.C est extrêmement toxique, celle qui a une DL50 appartenant à l'intervalle 50 et 500 mg/kg P.C est considérée comme toxique. La substance qui a une DL50 se situant entre 500 et 5000 mg/kg P.C est faiblement toxique et celle qui a une DL50 supérieure à 5000 est non toxique. Selon cette classification, l'extrait aqueux de *Pseudocedrela kotschyi* administrée par voie intrapéritonéale est toxique.

Ce résultat est différent de celui d'Akuodor et al. qui ont déterminé une DL50 de 775 mg/kg P.C par voie intrapéritonéale des extraits de *Pseudocedrela kotschyi*.

Cette toxicité de l'extrait aqueux de *Pseudocedrela kotschyi* déterminée par voie intrapéritonéale est semblable à celle de l'extrait aqueux des écorces de tiges de *Ximenia americana*, de *Tamarindus indica* qui ont des DL50 respectives de 237,5 mg/kg P.C et 377±27 mg/kg P.C.

Cette plante mérite donc d'être utilisée avec précaution chez l'homme.

Conclusion

Les résultats de cette étude montrent que l'extrait aqueux d'écorces de *Pseudocedrela kotschyi* a des propriétés antipyrétiques. Ces propriétés antipyrétiques sont probablement dues à la présence de composés phytochimiques tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les composés phénoliques et les saponosides et les terpenoïdes mis en évidence dans cet extrait aqueux. L'administration intrapéritonéale de l'extrait aqueux d'écorces de *Pseudocedrela kotschyi*, à de fortes doses est très toxique pour les souris. L'extrait aqueux devrait donc être utilisé avec précaution. Des expériences ultérieures utilisant des extraits purifiés sont envisagées pour identifier précisément les composés responsables de cette activité antipyrétique et comprendre leur mécanisme d'action.

Bibliographie

1. Adeniyi CBA., Odumosu BT, Aiyelaagbe OO, Kolude B (2010) In-vitro Antimicrobial Activities of Methanol Extracts of *Zanthoxylum xanthoxyloides* and *Pseudocedrela kotschyi*. Africa Journal Biomedecine, 13: 61-68.
2. Adesokan AA, Yakubu MT, Owoyele BV, Akanji MA, Soladoye AO, Lawal O. (2008) Effect of administration of aqueous and ethanol extracts of *Enantia chlorantha* stem bark on brewer's yeast induced pyresis in rats. Afr J of Biochem., 2(7):165-169.
3. Akuodor GC, Essien AD, Essiet GA, David-Oku JL, Akpan FV (2013) Evaluation of Antipyretic Potential of *Pseudocedrela kotschyi* Schweint. Harms (Meliaceae). European Journal of Medicinal Plants. 3(1): 105-113.
4. Alhassan MA, Ibrahim M, Musa IA (2014) Phytochemical screening and antimicrobial evaluation of stem bark of *Pseudocedrela kotschyi* (Schweinf.) Herms. British Journal of pharmaceutical Research, 4:1934-1944.

5. Ashfaq K, Choudhary AB, Uzair M, Hussain NS, Ghaffari AM, Sarwar W, Manzoor M (2016) Antipyretic, analgesic and anti-inflammatory activities of methanol extract of root bark of *Acacia jacquemontii* Benth (Fabaceae) in experimental animals. *Trop J Pharmaceut Res.* 15(9):1859-1863.
6. Bekro YA, Bekro JAM, Boua BB, Tra BFH, Ehile EE (2007) Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) (Caesalpiniaceae). *Revue. Sciences & Nature*, 4(2): 217-225.
7. Bothon TDF, Debiton E, Avlessi F, Forestier C, Teulade J, Sohounhloue KCD (2013) In vitro biological effects of two anti-diabetic medicinal plants used in Benin as folk medicine. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13:1-8.
8. Datte YJ, Offoumou AM (2001) Effet de l'extrait de *Caesalpinia bonduc* (linn) Roxb. (Caesalpiniaceae) sur les souris in vivo. *Revue de Médecine et Pharmacopées Africaines*, 15:51-57.
9. Diezi J (1989) Toxicologie : principes de base et répercussions cliniques. In : *Pharmacologie : des principes fondamentaux aux applications thérapeutiques*. Ed Slatkine, Genève, PP.33-34.
10. Dragsted A, Lang B (1957) Etude de la toxicité par administration unique d'un nouveau médicament. *Annales Pharmaceutiques Françaises* 11.
11. Hegnauer R (1973) *Chemotaxonomie der Pflanzen*. Birkhäuser Verlag, Basel, Stuttgart, 6: 407-408.
12. Kamau JK, Nthiga PM, Safari VC, Njagi SM, Mwonjoria JK, Ngugi P, Ngeranwa JJN (2016) Antipyretic properties of methanolic stem bark extract of *Acacia hockii* De wild and *Kigelia Africana* (Lam) Benth in Wistar rats. *J Pharmacog Nat Prod.*; 2(3):1-6.
13. Kerharo J, Adam JG (1974) *La Pharmacopée sénégalaise traditionnelle. Plantes médicinales et toxiques*. In: *Journal d'agriculture tropicale et de botanique appliquée*, 21 (n°1-3):76-77.
14. Kpodar MS, Karou SD, Katawa G, Anani K, Gbekley HE, Adjrah Y, Tchacondo T, Batawila K, Simpore J (2016) An ethnobotanical study of plants used to treat liver diseases in the Maritime region of Togo. *Journal of Ethnopharmacology*, 181 :263-273.
15. Kumar S, Bajwa BS, Singh K, Kalia AN (2013) Anti-inflammatory activity of herbal plants. *Inter J Adv Pharm Biol Chem.*, 2:77-88.
16. Leon LR. (2002) Molecular biology of thermoregulation invited review: cytokine regulation of fever: studies using gene knockout mice. *J Appl Physiol.*, 92:2648-2655.
17. Miller LC et Tainter ML (1944). Estimation of ED50 and its error by mean of logarithmic. *Probit paper*. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 57: 261-264.
18. Natabou Dégbé F (1991) **Contribution à l'étude de la médecine et de la Pharmacopée traditionnelles au Bénin: Tentatives d'intégration dans le système de santé officiel. Thèse pour l'obtention du diplôme de Docteur en Pharmacie de l'Université Cheikh Anta Diop (Sénégal), 138 p.**
19. Nthiga PM, Kamau JK, Safari VZ, Mwonjoria JK, Ngugi MP, Mburu DN. (2016b) Antipyretic potential of methanolic stem bark extract of *Harrisonia abyssinica* Oliv and *Landolphia buchananii* (Hallier F.) Stapf in Wistar rats. *J Appl Pharm.* 8(3):1-7.
20. Okokon JE, Nwafor PA (2010) Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of ethanolic root extract of *Croton zambesicus*. *Pakistan J of Pharmaceut Sci.*, 23:385-392.
21. Ouedraogo N, Lompo M, Sawadogo RW, Tibiri A, Hay AE, Koudou J, Guissou IP (2012) Etude des activités anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique des décoctés aqueux des feuilles et des racines de *Pterocarpus erinaceus* Poir. (Fabaceae). *Phytothérapie*, 10(5): 286-292.
22. Reanmongkol W, Matsumoto K, Watanabe H, Subhadhirasakul S, Sakai S (1994) Antinociceptive and antipyretic effects of alkaloids extracted from the stem bark of *Hunteria zeylanica*. *Bio Pharmaceut Bul J.*, 17(10):1345-1350.
23. Ribeiro MA, Bernardo-Gil MG et Esquivel MM (2001) *Melissa officinalis* L.: study of antioxidant activity in supercritical residues. *Journal of Supercritical Fluids*, 21(1): 51-60.
24. Roberts LC et Morrow JD (2001) Analgesic-Antipyretic and Antiinflammatory Agents and Drugs employed in the treatment of Gout. In: (Hardman JG, Limbird LE., eds) *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 10th ed. McGraw Hill, mt. Ed., pp.687-731.
25. Ronchetti F, Russo G (1971) A new alkaloid from *Rauvolfia*. *Phytochemistry* 10 (6): 1385- 1388.
26. Soro TY, Traore F, Sakande J (2009) Activité analgésique de l'extrait aqueux de *Ximenia americana* (Linné) (Olacaceae). *Comptes Rendus Biologies*, 332(4) :371-377.

Synthèse et Activité Antibactérienne *in vitro* de Nouveaux dérivés 2-thiométhyl-benzimidazoles

*ZON Doumade^{1,2}, Coulibali Siomenan¹, Ablo Evrard¹, Toure Daouda³, Ouattara Logopho Hyacinthe²,

1. Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière, UFR Sciences des Structures de la Matière et Technologie, Université Félix Houphouët Boigny de Cocody, 22 BP Abidjan 22, Côte d'Ivoire.

2. Département de Mathématiques-Physique-Chimie, UFR des Sciences Biologiques, Université Peleforo GON COULIBALY, BP 1328 Korhogo, Côte d'Ivoire.

3. Département de Biologie, UFR des Sciences Biologiques, Université Peleforo GON COULIBALY, BP 1328 Korhogo, Côte d'Ivoire.

*Auteur correspondant : ZON Doumadé. E-mail : zondoumade@gmail.com

Résumé

Le noyau benzimidazole est un pharmacophore très important à cause de la diversité de ses propriétés biologiques [1] [2]. Parmi les variations structurales sur ce noyau, celles touchant les positions -1, -2 et -5 sont les plus importantes. Nous rapportons dans cet article, la synthèse d'une série de nouveaux dérivés de benzimidazole (**7a-n**) substitués en position -1 et -2. Ces molécules sont obtenues par réaction de N-alkylation sur des intermédiaires thiométhyl-1H-benzimidazolés [9](**5a-g**). La conception des intermédiaires (**5a-g**) a été faite par réaction de condensation entre le sel de 2-méthylbenzimidazole thiouronium (**3**) avec des halogénures fonctionnalisés (**4**) en présence d'hydroxyde de sodium (NaOH). Tous les composés synthétisés ont été caractérisés par les spectres RMN ¹H, ¹³C et la HRMS. Dix composés ont été évalués pour leur activité antimicrobienne en utilisant la méthode de diffusion décrite par le NCCLS [22] avec quelques modifications, sur trois souches bactériennes à savoir : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Les molécules **7f** et **7h** ont montré une activité significative sur *E. coli* ATCC 25922 avec des CMI de 500 µg/mL. Des études théoriques sont en cours pour établir une relation structure-activité des molécules.

Mots clés : activité antibactérienne, benzimidazole, 2-méthylbenzimidazole thiouronium, halogénures

Synthesis and *in vitro* Antibacterial Activity of New 2-thiométhyl-benzimidazole derivatives

Abstract

The benzimidazole ring is an very important pharmacophore because of the diversity of its biological properties [1] [2]. Among the structural variations on this core, those affecting positions -1, -2 and -5 are the most important. We report in this article the synthesis of a series of new benzimidazole derivatives (**7a-n**) substituted in position -1 and -2. These molecules are obtained by reaction of N-alkylation on thiomethyl-1H-benzimidazole intermediates [9](**5a-g**). The design of the intermediates (**5a-g**) was made by condensation reaction between the salt of 2-methylbenzimidazole thiouronium (**3**) with functionalized halides (**4**) in the presence of sodium hydroxide (NaOH). All synthesized compounds were characterized by the ¹H, ¹³C and HRMS NMR spectra. Ten compounds were evaluated for their antimicrobial activity. The method used is that of diffusion method described by NCCLS [22] with some modifications on three bacterial strains namely: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Molecules **7f** and **7h** showed significant antibacterial activity on *E. coli* ATCC 25922 with MIC of 500 µg/mL. Theoretical studies are underway to establish a structure-activity relationship of molecules.

Keywords: antibacterial activity, benzimidazole, 2-methylbenzimidazole thiouronium, halides

1. Introduction

Le noyau benzimidazole est un pharmacophore important possédant un grand intérêt à cause de la diversité de ses propriétés biologiques [1] [2]. Il est présent dans la structure de certains médicaments cliniquement utilisés tels que (asétomidate, cimétidine, oméprazole, lansoprazole, azomycine, azomycine, flumazénil, thyrolibérine, méthimazole, pilocarpine et étomidate) où il agit comme le groupe pharmacophore ou comme un substituant [3]. De nombreux travaux autour de ce noyau ont été breveté pour diverses activités biologiques, telles que les propriétés antitumorales[4], anti-inflammatoires[5] [6], anticancéreuses[7] [8] et antifongiques.[9] [10] [11] Parmi les variations structurales sur ce noyau, celles touchant les positions -1, -2 et -5 sont les plus importantes. En effet, l'optimisation des propriétés biologiques dépend de la nature des substituants sur ces positions.[12] [13] Les études récentes ont montré que la présence d'un groupement thiol en position -2 est importante pour l'exaltation des activités antimicrobienne,[14] inflammatoires,[15] activité antivirale,[16] antibactérienne,[17] antioxydant, [18] [19] anticancéreux,[20] et anti-prolifératif[21]. Malgré l'arsenal thérapeutique

existant, l'efficacité de ces molécules est limitée par l'augmentation de souches résistantes aux bactéries. Par conséquent, il est essentiel de concevoir et de synthétiser de nouveaux agents antibactériens en se basant sur la flexibilité du noyau benzimidazole. Pour apporter notre contribution à la recherche de molécules antibactériennes, nous avons conçu des nouveaux dérivés du thiométhylbenzimidazole en introduisant des substituants diversifiés sur les positions-1 et -2. L'originalité de nos travaux réside dans l'introduction du groupe méthylénique entre le carbone C-2 du benzimidazole et l'atome de soufre.

2. Matériel et méthodes

2.1 Matériel

2.1.1. Matériel chimique

Sauf indication contraire, les spectres RMN ^1H et ^{13}C ont été enregistrés à 300 et 75MHz ou 400 et 101 MHz ou 600 et 151 MHz, respectivement, dans des solutions de CDCl_3 , DMSO et acétone. Les déplacements chimiques sont indiqués en ppm sur l'échelle. Les multiplicités sont décrites comme s (singulet), d (doublet), dd (doublet de doublet), t (triplet), q (quadruplet), m (multiplet) et les constantes de couplage J sont exprimées en Hz. Les masses ont été mesurées en mode électrospray (ESI) sur un analyseur de masse LC-MSD TOF.

2.1.2. Matériel biologique

Souches bactériennes et préparation de l'inoculum

Les essais antibactériens ont été réalisés sur trois souches bactériennes: *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 et *P. aeruginosa* ATCC 27853 toutes issues du laboratoire de Bactériologie de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire et isolées du liquide gastrique d'un patient hospitalisé au Centre Hospitalier Universitaire de Cocody (Abidjan). La standardisation de l'inoculum bactérien a été réalisée sur colonies de culture jeune dans du NaCl à 0,9 % et la mesure de la densité optique au DENSIMAT a permis d'avoir un inoculum correspondant à environ 10^6 UFC/mL.

2.2. Méthodes

2.2.1. Méthodes de synthèse

Synthèse des dérivés du benzimidazole

Méthode de synthèse du sel de chlorure de 2-méthylbenzimidazole thiouronium (3)

A une solution de 2-(chlorométhyl)-1*H*-benzimidazole (1éq, 0.0572 mol) dans 50 ml d'acétonitrile est ajouté la thiourée (1éq ; 0.0572mol.). Le mélange est porté à reflux pendant 2 heures. A la fin de la réaction, il se forme un précipité qui est filtré à chaud puis lavé plusieurs fois à l'acétate d'éthyle puis séché à l'air libre. Rdt 92%, Aspect : cristaux marron blanc, PF = 192°C

Procédure générale de synthèse des dérivés 2-thioalkyle méthyle benzimidazoles (5a-g)

A une solution de sel de chlorure de 2-méthylbenzimidazole thiouronium (1 éq, 0.00261 mol) dans 10 ml d'éthanol, est ajoutée 10 ml d'une solution aqueuse de soude. Le mélange est agité jusqu'à reflux, l'agent alkylant (1.2 éq, 0.00314 mol) est alors ajouté et est laissé au reflux sous agitation pendant 1 heure. A la fin de la réaction, le mélange réactionnel est refroidi à la température ambiante puis la phase aqueuse est extraite au dichlorométhane puis séchée et évaporée sous pression réduite. Le produit obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice en utilisant comme éluant hexane/acétate d'éthyle (66 / 33).

Procédure générale de synthèse des dérivés N-Alkylés du 2-((thioalkyl)méthyle)-1*H*-benzimidazole (7a-n)

A une solution de 2-((thioAlkyl)méthyle)-1*H*-benzimidazole (1 éq, 0.01mol) dans 8 ml de DMF, est ajoutée le carbonate de potassium (6 éq, 0.06 mol) puis le mélange est agité à 50°C pendant 1 heure. On ajoute ensuite le chlorure d'éthyle ou de benzyle (4 éq, 0.04 mol) puis le mélange est agité à 50°C pendant 3 heures. Le mélange réactionnel est ensuite refroidi à la température ambiante puis la phase aqueuse est extraite au dichlorométhane puis séchée et évaporée sous pression réduite. Le produit obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice en utilisant comme éluant hexane/acétate d'éthyle (66/33).

2.2.2. Méthodes des tests biologiques

Méthode de préparation des solutions mères

Les composés de synthèse ont été dissouts dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO) de sorte à avoir une concentration finale de 1000 µg/mL. Cette solution mère sera utilisée pour les essais antibactériens. A cette concentration, le DMSO est sans effet sur la croissance des bactéries testées (témoin négatif). Les solutions mères ont été stérilisées à 121°C/15 minutes et les tests de stérilités n'ont montré aucune contamination microbienne.

Méthode de Préparation du test de diffusion sur gélose

Dans un premier temps, l'activité antibactérienne des composés a été évaluée par la méthode de diffusion décrite par le NCCLS [22] avec quelques modifications. L'*inoculum* bactérien préalablement préparé est ensemencé par écouvillonnage sur chaque boîte de gélose Mueller-Hinton. Un volume de 80 µL de chaque composé est déposé dans les puits réalisés à l'aide d'une pipette pasteur et après incubation à 37 °C pendant 18-24h. Les diamètres (puits compris) des zones d'inhibitions autour des puits sont mesurées (en mm) à l'aide d'un pied à coulisse. Le composé est dit actif si le diamètre d'inhibition est \geq à 8 mm. Un disque de Ciprofloxacine (5µg) a été utilisé comme antibiotique de référence (témoin positif). Chaque essai a été repris en triple trois fois.

Méthode de détermination de la Concentration minimale Inhibitrice (CMI)

La technique de macro dilution en milieu liquide rapportée par Okou *et al.*, [23] avec quelques modifications a permis de déterminer la CMI. Des séries de double dilution de chaque composé sont réparties dans 10 tubes à hémolyse, suivi de l'ajout de l'*inoculum* bactérien à 10⁶ UFC/mL. On obtient une gamme de concentration finale allant de 0,98 à 500 µg/mL. Le tout est incubé à 37 °C pendant 18-24h. La CMI est définie comme la plus faible concentration pour laquelle il n'y a pas de croissance visible.

3. Résultats et discussions

3.1. Chimie

La synthèse des nouveaux dérivés du benzimidazole (**7a-n**) a été réalisée par interaction entre les 2-(substituéthio)méthyl-1*H*-benzimidazoles (**5a-g**) avec des halogénures d'alkyles ou de benzyles (Schéma 1). Ces nouvelles molécules ont été obtenues en utilisant la méthode décrite par Lopes et collaborateurs⁹. Cette méthode consiste à chauffer à 60°C dans le diméthylformamide (DMF), le mélange des composés **5a-g** et les halogénures d'alkyle ou de benzyle **6** en présence de carbonate de potassium (K₂CO₃). La réaction génère un ion amidure qui réagit ensuite avec l'électrophile pour donner les dérivés N-alkylés benzimidazoles. Les composés (**7a-n**) sont isolés et purifiés par chromatographie sur gel de silice. Quant à la synthèse des composés (**5a-g**), elle a été faite par réaction de substitution nucléophile (S-alkylation) entre le sel de chlorure de 2-méthylbenzimidazole thiouronium (**3**) et des halogénures d'alkyles (**4**) fonctionnalisés. Cette réaction est réalisée en présence d'hydroxyde de sodium (NaOH) dans un mélange eau-éthanol pendant 1 heure. Le sel de chlorure de thiouronium benzimidazolé (**3**) que nous avons utilisé pour synthétiser nos composés (**5a-g**) est obtenu en chauffant au reflux de l'acétonitrile, le composé **1** avec la thiourée **2** pendant 1 heure.

L'analyse des spectres RMN ¹H et ¹³C des composés (**5a-g**) montre la présence des pics correspondants aux différents groupements alkyles. Les spectres RMN des composés (**7a-n**) obtenus montrent la disparition du proton de l'azote pyrrolique autour de 12 ppm et l'apparition des pics correspondant aux groupements éthyles et benzyles. La présence des groupes N-éthyles des composés (**7a-n**) est caractérisée par la présence d'un quadruplet autour de 4.2 ppm avec une constante de couplage de 7.3 Hz. Ce quadruplet correspond aux deux protons directement liés à l'atome d'azote. La formation des composés N-benzylés est également confirmée par la présence de singulet autour de 5.5 ppm correspondant aux protons du groupement méthylénique (CH₂N). Pour les composés **7g** et **7i**, les deux protons sont observés sous forme de doublet. Les structures de ces molécules sont également confirmées par le spectre RMN ¹³C. Sur ces spectres, on observe des pics à 3.,6 ppm et 14.7 ppm qui confirment bien la présence des groupements méthyle et méthylène.

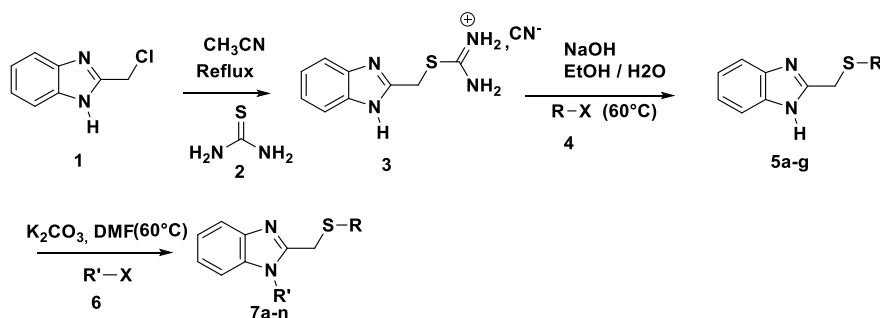


Schéma 1

3.2. Biologie

3.2.1. Test de diffusion sur gélose

Parmi les molécules benzimidazolées que nous avons synthétisé, dix ont été évaluées *in vitro* par la méthode de diffusion sur gélose et de macrodilution en milieu liquide sur *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 et *P. aeruginosa* ATCC 27853

Les résultats des essais de diffusion sur gélose sont rapportés dans le tableau I. Les molécules **5c**, **5g**, **7f** et **7h** ont montré une bonne activité antibactérienne sur *E.coli* ATTC 25922 avec des diamètres d'inhibition compris entre 15 ± 0.04 et 18 ± 0.01 mm. Ce résultat permet de conclure qu'elles sont très sensibles à cette souche bactérienne. Elles ont également présenté une bonne activité antibactérienne sur *S.aureus* ATCC 25923 avec des diamètres d'inhibition allant de 11 ± 0.10 à 18 ± 0.02 . Par contre, elles sont sans effet sur *P. aeruginosa* ATCC 27853 à la concentration de 1000 µg/mL. Quant aux molécules **7i**, **7j**, **7m**, **7n**, **7k** et **7l**, elles n'ont pas révélé une activité antibactérienne sur *E.coli* ATTC 25922 et *S.aureus* ATCC 25923 à la concentration de 1000 µg/mL avec des diamètres d'inhibition inférieurs à 8 mm. Par contre, elles ont présenté une meilleure activité antibactérienne sur *P. aeruginosa* ATCC 27853 avec des diamètres d'inhibition compris entre 12 ± 0.02 et 16 ± 0.04 .

Tableau I : Diamètres des zones d'inhibition en mm (moyenne \pm écart-type)

Composés	Diamètres d'inhibition de la zone (mm) \pm SD		
	<i>E coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>S. aureus</i> ATCC 25923
5c	15 \pm 0.04	6 \pm 0.00	15 \pm 0.00
5g	18 \pm 0.01	6 \pm 0.00	18 \pm 0.02
7f	16 \pm 0.12	6 \pm 0.00	12 \pm 0.08
7h	16 \pm 0.00	6 \pm 0.00	11 \pm 0.10
7i	6 \pm 0.00-	12 \pm 0.02	6 \pm 0.00
7j	6 \pm 0.00-	15 \pm 0.80	6 \pm 0.00
7m	6 \pm 0.00	13 \pm 0.06	6 \pm 0.00
7n	6 \pm 0.00	16 \pm 0.04	6 \pm 0.00
7k	6 \pm 0.00	13 \pm 0.04	6 \pm 0.00
7l	6 \pm 0.00	13 \pm 0.00	6 \pm 0.00
Ciprofloxacin (5 µg)	28 \pm 0.01	31 \pm 0.01	22 \pm 0.04

3.2.2. Détermination de la Concentration minimale Inhibitrice (CMI) et de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB en µg/mL)

La CMI a été réalisée uniquement pour les molécules les plus actives constatées lors des tests de sensibilité et ayant induit un diamètre dans la zone d'inhibition supérieur ou égal à 15 mm [24]. Les résultats des CMI et CMB sont rapportés dans le Tableau II. Les molécules **5g**, **7f** et **7h** ont montré une activité antibactérienne significative avec des CMI allant de 250 à 500 µg/mL sur *E. Coli* ATTC 25922. Parmi ces trois molécules, seule **5g** a présenté une bonne activité antibactérienne sur *S. aureus* ATCC 25923 avec une CMI = 250 µg/mL. Quant à **7n**, elle a présenté une bonne activité antibactérienne sur *P. aeruginosa* ATCC 27853 avec une CMI = 500 µg/mL. Pour toutes les molécules dont nous avons déterminé la CMB, elle s'est révélée supérieure à 500 µg/mL. Parmi ces molécules, **5g** a présenté la meilleure Concentration Minimale Inhibitrice (CMI = 250 µg/mL). **7k** et **7l** obtenues respectivement par l'introduction d'un groupement éthyle et benzyle sur l'azote pyrrolique du composé **5g** n'a pas montré

une activité antibactérienne. Nous pouvons donc conclure que la N-alkylation n'a pas permis d'améliorer l'activité antibactérienne du composé **5g**.

Tableau II : Concentration Minimale Inhibitrice (CMI en µg/mL) et Concentration Minimale Bactéricide (CMB en µg/mL)

Composés	<i>E. coli</i> ATTC 25922		<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853		<i>S. aureus</i> ATCC 25923	
	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB
5c	>500	-	-	-	>500	>500
5g	250	>500	-	-	250	>500
7f	500	>500	-	-	-	-
7h	500	>500	-	-	-	-
7i	-	-	-	-	-	-
7j	-	-	>500	>500	-	-
7m	-	-	-	-	-	-
7n	-	-	500	>500	-	-
7k	-	-	-	-	-	-
7l	-	-	-	-	-	-

NB : - = non déterminé ;

4. Conclusion

Ce travail a permis de synthétiser au total quatorze (14) nouveaux dérivés 2-thiométhyl-benzimidazoles (7a-n). Il s'agit des N-Alkylés du 2-((thioalkyl)méthyl)-1*H*-benzimidazole (7a-n). Ces composés ont été obtenus avec des rendements allant de 60 à 82% et leurs structures ont été confirmés par les résultats d'analyses spectroscopiques RMN du proton ¹H, du carbone ¹³C et la spectroscopie de masse. Les résultats des tests antibactériens ont montré que les N-Alkylés du 2-((thioalkyl)méthyl)-1*H*-benzimidazole possèdent en général un potentiel antibactérien. Les molécules **7f** et **7h** ont une activité significative sur *E. coli* ATTC 25922 avec des CMI de 500 µg/mL et sur *S.aureus* ATCC 25923 avec des diamètres d'inhibition allant de 11 ± 0.10 à 16 ± 0.12. Quant aux molécules **7i**, **7j**, **7m**, **7n**, **7k** et **7l**, elles ont présenté une meilleure activité antibactérienne sur *P. aeruginosa* ATCC 27853 avec des diamètres d'inhibition compris entre 12 ± 0.02 et 16 ± 0.04. Dans cette série des 2-((thioalkyl)méthyl)-1*H*-benzimidazoles, la N-alkylation n'est pas nécessaire pour améliorer les activités antibactériennes sur les germes étudiés. Cependant, des études théoriques sont en cours pour établir une relation structure-activité des molécules.

References bibliographiques

- [1]. Vinodkumar, R., Vaidya, S. D., Kumar, B. V. S., Bhise, U. N., Bhirud, S. B. and Mashelkar, U. C. (2008) Synthesis, anti-bacterial, anti-asthmatic and anti-diabetic activities of novel N-substituted 2-(4-styrylphenyl)-1*H*-benzimidazole and N- substituted-3[4-(1*H*-benzimidazole-2-yl)-phenyl]-acrylic acid tert-butyl ester. *Arkivoc* **2008**, 37–49.
- [2]. Hazelton, J. C., Iddon, B., Suschitzky, H. and Woolley, L. H. (1995) 2*H*-benzimidazoles (isobenzimidazoles). Part 10. Synthesis of polysubstituted o-phenylenediamines and their conversion into heterocycles, particularly 2-substituted benzimidazoles with known or potential anthelmintic activity. *Tetrahedron*, Elsevier **51**, 10771–10794.
- [3]. Sharma, S., Gangal, S. and Rauf, A. (2009) Convenient one-pot synthesis of novel 2-substituted benzimidazoles, tetrahydrobenzimidazoles and imidazoles and evaluation of their in vitro antibacterial and antifungal activities. *European Journal of Medicinal Chemistry* **44**, 1751–1757.
- [4]. Wells, G., Lowe, P. R. and Stevens, M. F. G. (2000) Antitumor benzothiazoles. 13. (Diacetoxy)iodobenzene (DAIB) oxidation of 2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)benzothiazole and related compounds in the presence of dienophiles. *Arkivoc* (Rees, C., ed.) **2000**, 779–797.
- [5]. Achar, K. C. S., Hosamani, K. M. and Seetharamareddy, H. R. (2010) In-vivo analgesic and anti-inflammatory activities of newly synthesized benzimidazole derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry* **45**, 2048–2054.
- [6]. Khan, S. A. and Nandan, A. M. (1997) 2-Substituted benzimidazoles as antiinflammatory and analgesic agents. *Indian Journal of Heterocyclic Chemistry*, DR RS VARMA C-85 SECTOR-B, ALIGANJ SCHEME, LUCKNOW, IN 226020 **7**, 55–58.

- [7]. Repicky, A., Jantova, S. and Cipak, L. (2009) Apoptosis induced by 2-acetyl-3-(6-methoxybenzothiazol-2-yl)-amino-acrylonitrile in human leukemia cells involves ROS-mitochondrial mediated death signaling and activation of p38 MAPK. *Cancer Lett* **277**, 55–63.
- [8]. Devmurari, V. P., Shivanand, P., Goyani, M. B., Nandanwar, R. R., Jivani, N. P. and Perumal, P. (2010) Synthesis and anticancer activity of some novel 2-substituted benzothiazole derivatives. *Int. J. Chem. Tech. Res* **2**, 681–689.
- [9]. Ansari, K. F. and Lal, C. (2009) Synthesis, physicochemical properties and antimicrobial activity of some new benzimidazole derivatives. *European journal of medicinal chemistry, Elsevier* **44**, 4028–4033.
- [10]. Vinodkumar, R., Vaidya, S. D., Kumar, B. V. S., Bhise, U. N., Bhirud, S. B. and Mashelkar, U. C. (2008) Synthesis, anti-bacterial, anti-asthmatic and anti-diabetic activities of novel N-substituted-2-(4-phenylethynyl-phenyl)-1H-benzimidazoles and N-substituted 2-[4-(4, 4-dimethyl-thiochroman-6-yl-ethynyl)-phenyl]-1H-benzimidazoles. *European journal of medicinal chemistry, Elsevier* **43**, 986–995.
- [11]. Vaidya, S. D., Kumar, B. V. S., Kumar, R. V., Bhise, U. N. and Mashelkar, U. C. (2007) Synthesis, anti-bacterial, anti-asthmatic and anti-diabetic activities of novel N-substituted-2-(benzo [d] isoxazol-3-ylmethyl)-1H-benzimidazoles. *Journal of heterocyclic chemistry, Wiley Online Library* **44**, 685–691.
- [12]. Mariappan, G., Hazarika, R., Alam, F., Karki, R., Patangia, U. and Nath, S. (2015) Synthesis and biological evaluation of 2-substituted benzimidazole derivatives. *Arabian Journal of Chemistry, Elsevier* **8**, 715–719.
- [13]. Boggu, P., Venkateswararao, E., Manickam, M., Kwak, D., Kim, Y. and Jung, S.-H. (2016) Exploration of 2-benzylbenzimidazole scaffold as novel inhibitor of NF- κ B. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **24**, 1872–1878.
- [14]. Gund, D. R., Tripathi, A. P. and Vaidya, S. D. (2017) Synthesis and antimicrobial activity of some novel N-substituted benzimidazoles. *European Journal of Chemistry, Atlanta Publishing House LLC* **8**, 149–154.
- [15]. Shafiee, A., Ebrahimzadeh, M. A., Zarghi, A. and Dehpour, A. R. (1998) Synthesis and Anti-inflammatory Activity of 1-Benzyl-2-(X-thio) pyrrolo [2, 3-d] imidazole-5-carboxylates. *Pharmacy and Pharmacology Communications, Wiley Online Library* **4**, 99–101.
- [16]. Wang, Y., Inguaggiato, G., Jasamai, M., Shah, M., Hughes, D., Slater, M. and Simons, C. (1999) Synthesis and biological evaluation of novel 2'-deoxy-4'-thio-imidazole nucleosides. *Bioorganic & medicinal chemistry, Elsevier* **7**, 481–487.
- [17]. Kidwai, M., Misra, P., Dave, B., Bhushan, K. R., Saxena, R. K. and Singh, M. (2000) Microwave Activated Solid Support Synthesis of New Antibacterial Quinolones. *Monatshefte fuer Chemie* **131**, 1207–1212.
- [18]. Maddila, S., Palakonda, L. and Chunduri, V. R. (2010) Synthesis, antibacterial, antifungal and antioxidant activity studies on 2-benzylthio-and 2-benzylsulfonyl-1H-imidazoles. *Der Pharmacia Lettre* **2**, 393–402.
- [19]. Al-Zamil, N. O., Al-Sadhan, K. A., Isab, A. A., Wazeer, M. I. and Al-Arfaj, A. R. A. (2007) Silver (I) complexes of imidazolidine-2-thione and triphenylphosphines: Solid-state, solution NMR and antimicrobial activity studies. *Spectroscopy, IOS Press* **21**, 61–67.
- [20]. Balewski, \Lukasz, Sączewski, F., Bednarski, P. J., Gdaniec, M., Borys, E. and Makowska, A. (2014) Structural diversity of copper (II) complexes with N-(2-pyridyl) imidazolidin-2-ones (thiones) and their in vitro antitumor activity. *Molecules, Multidisciplinary Digital Publishing Institute* **19**, 17026–17051.
- [21]. Cesarini, S., Spallarossa, A., Ranise, A., Schenone, S., Rosano, C., La Colla, P., Sanna, G., Busonera, B. and Loddo, R. (2009) N-Acylated and N, N'-diacylated imidazolidine-2-thione derivatives and N, N'-diacylated tetrahydropyrimidine-2 (1H)-thione analogues: Synthesis and antiproliferative activity. *European journal of medicinal chemistry, Elsevier* **44**, 1106–1118.
- [22]. NCCLS Approval Standard Document M2-A7. National Committee for Clinical Laboratory Standards: . Vilanova, PA, USA, (2000).
- [23]. Okou, O. C., Yapo, S. E.-S., Kporou, K. E., Baibo, G. L., Monthaut, S. and Djaman, A. J. (2018) Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de feuilles de *Solanum torvum* Swartz (Solanaceae) sur la croissance in vitro de 3 souches d'entérobactéries. *Journal of Applied Biosciences* **122**, 12287–12295.
- [24]. Nadja Fertout-Mouri, Ali latreche, Zoheir Mehdadi, Zohra Bengherraz (2016) Activité antibactérienne de quatre extraits de *Teucrium polium* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale). *Bulletin de la Société royale des Sciences de Liège, Vol. 85, 2016, p. 253 – 262*

Réactions de Cycloaddition 1,3-Dipolaire Sur Les Dérivés De La 2- [(5-Méthyl-Isoxazol-3-yl)]Méthyl]Benzimidazoles : Synthèse De Nouvelles 1,2,3-Triazolo-Benzimidazoles

Mohamadou Lamine Doumbia ^{1*}, M'bouille Cisse ¹, Assoman Serge Alain Kouakou ¹,
Vakaba Doumbouya¹, Bakary Coulibaly ², Nahosse Ziao ³, Rakib El Mostapha ⁴, El Mokhtar Essassi ⁵

1-Université Jean Lorougnon Guédé, UFR Environnement, Laboratoire des sciences et technologies de l'environnement, Equipe de recherche Chimie Organique et Analytique, Daloa, B.P. 150, Côte d'Ivoire.

2-Groupe Enval laboratoire, Abidjan, 26 BP 977, Côte d'Ivoire.

3-Université Nangui Abrogoua, UFR Sciences Fondamentales et Appliquées (UFR-SFA). Laboratoire de Thermodynamique et de Physico-Chimie du Milieu (LTPCM), Abidjan, 02 B.P. 801, Côte d'Ivoire.

4- Université Sultan Moulay Slimane, Ecole Supérieur de Technologie, Fkih Ben Salah, BP 591, Maroc.

5- Université Mohammed V, Faculté des Sciences, Rabat, B.P: 8007.N.U, Maroc.

* mohamadoul.doumbia@gmail.com

Résumé

Développer des molécules plus performantes pour faire face aux crises sanitaires, est devenue plus qu'une nécessité. Ainsi, en combinant certains hétérocycliques actifs (benzimidazole, 1,2,3-triazole, isoxazole) dans la même molécule, on obtiendrait un nouvel hybride avec des activités biologiques étendues. Pour ce faire, nous avons étudié la réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire dans l'éthanol à reflux, entre le benzylazide **10** et le 2-[(5-méthyl-isoxazol-3-yl)] méthyl] benzimidazole **2** et ses dérivés N-substitués (benzyle **6**, allyle **7**, propargyle **8**. Le dipolarophyle **8** est le seul à réagir avec le benzylazide, en conduisant à un seul cycloadduit A = 1,2,3-triazoles 1,4-disubstituée ou B = 1,2,3-triazoles 1,5-disubstituée. La comparaison des données spectroscopiques [MH+ à m/z= 372, RMN¹H (γ = 8,14 ppm (s, 1H_{triazol}) et RMN¹³C (γ = 123 ppm (CH_{triazol})] avec celles de la littérature, nous ont conduits au régiosomère A (1,2,3-triazoles-1,4-disubstitués). Cette étude a montré une forte affinité du benzylazide avec la liaison triple. Cela nous a permis de préparer un dérivé benzimidazolique combinant l'isoxazole et la 1,2,3-triazole. La structure obtenue pourrait être corroborée par d'autres méthodes (DFT, RX, RMN 2d, chimie du clic).

Mots-clés : 1,2,3-Triazole ; 2-[(5-méthyl-isoxazol-3-yl)] méthyl] benzimidazole ; Benzylazide ; Cycloaddition

1,3-Dipolar Cycloaddition Reactions on 2-[(5-Methylisoxazol-3-yl)] Methyl] Benzimidazole Derivatives: Synthesis of New 1,2,3-Triazolobenzimidazoles

Abstract

Developing more efficient molecules to deal with health crises has become more than a necessity. Thus, by combining certain active heterocyclics (benzimidazole, 1,2,3-triazole, isoxazole) in the same molecule, a new hybrid with extensive biological activities would be obtained. To do this, we studied the 1,3-dipole cycloaddition reaction in reflux ethanol, between benzylazide and 2-[(5-methyl-isoxazol-3-yl)] methyl] benzimidazole **1** and its N-substituted derivatives (benzyl **2**, allyl **3**, propargyl **4**). Dipolarophyle **4** is the only one to react with benzylazide, to drive to a single cycloadduct A = 1,2,3-triazoles 1,4-disubstituted or B = 1,2,3-triazoles 1,5-disubstituted. The comparison of our spectroscopic data [MH+ à m/z= 372, RMN¹H (γ = 8,14 ppm (s, 1H_{triazol}) et RMN¹³C (γ = 123 ppm (CH_{triazol})] with those of the literature, led us to the regioisomer A (1,2,3-triazoles-1,4-disubstituted). This study showed a high affinity of benzylazide with triple bonding. This allowed us to prepare a new benzimidazolic derivative combining isoxazole and 1,2,3-triazole 1,4-disubstituted, whose structure could be corroborated by other methods (DFT, RX, 2d NMR, click chemistry).

Keywords: 1,2,3-Triazole ; 2-[(5-methyl-isoxazol-3-yl)] methyl] benzimidazole ; Benzylazide ; Cycloaddition

1. Introduction

Le **benzimidazole** et ses dérivés ont reçu beaucoup d'attention, en raison de leurs applications dans plusieurs domaines. Ils sont utilisés comme agents antibactériens [1], anticancéreux [2,3] et antiulcéreux [4,5]. Ils ont également des propriétés herbicides, insecticides et complexantes [6-8]. Parmi les composés azotés pharmacologiquement actifs, on peut citer également les **isoxazoles** qui sont des intermédiaires clés pour la préparation de produits qui imitent les composés naturels biologiquement actifs [9-13], et des molécules à motifs **1,2,3-triazole** ou **1,2,4-triazole**, utilisées comme intermédiaires de synthèse dans la préparation de nombreux principes actifs médicamenteux [14]. Elles sont en effet associées à des propriétés pharmacologiques diverses, telles que des activités antivirales [15], antibactériennes, antimicrobienne [16], antiépileptiques, anti-allergiques (antihistaminiques) [17], anti-prolifératives [18], anti-inflammatoires [19], ou antifongiques [20]. Le noyau triazole est également rencontré dans des dérivés de type nucléoside, où le cycle triazole remplace la base pyrimidique en conférant aux molécules des propriétés antivirales (anti-HIV, en particulier) ou anti-tumorales [21].

L'ensemble de toutes ces propriétés intéressantes que présentent ces noyaux hétérocycliques, nous ont amenés à préparer des nouvelles molécules combinant en leur sein, ces trois noyaux, dans le but d'obtenir un nouvel hybride avec un spectre d'activités plus large et plus importantes.

2. Matériel et méthodes

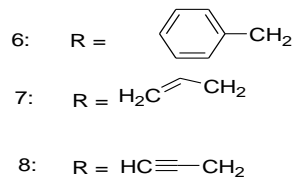
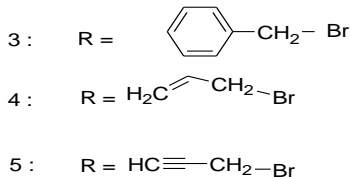
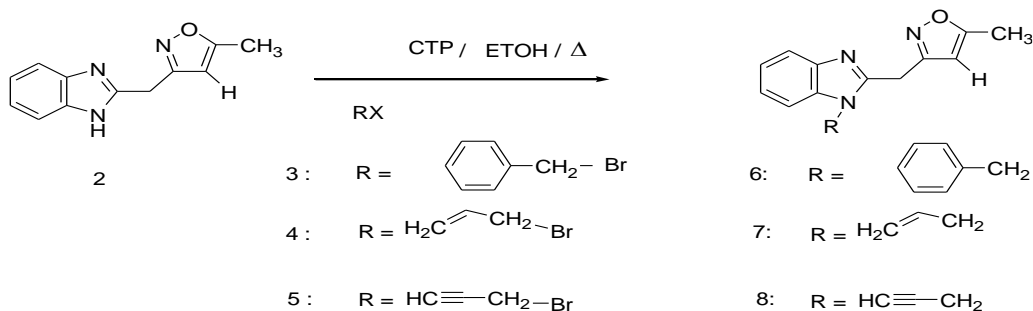
2.1. Synthèse des dipolarophiles :

Lorsque le chlorhydrate d'hydroxylamine (HONH₂, HCl) réagit avec le (4Z)-(2-oxopropylidène)-1,2,4,5-tétrahydro-2H-1,5-benzodiazépine-2-one **1** [22], dans l'éthanol à reflux, le 2-[(5-méthyl-isoxazol-3-yl)]méthyl]benzimidazole **2** est obtenu exclusivement [23].



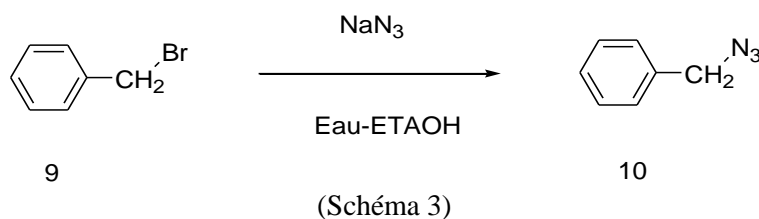
La réaction du chlorure de benzyle **3**, du bromure d'allyle **4** et du propargyle **5** en présence de la benzimidazole **2**, dans les conditions de la catalyse par transfert de phase (CTP) [23], dans l'éthanol à reflux, conduit aux N-alkyl-2-[(5-méthyl-isoxazol-3-yl)] méthyl] benzimidazoles [23] suivants :

- 1-benzyl-2-[(5-méthyl-isoxazol-3-yl)] méthyl] benzimidazole **6**
- 1-allyl-2-[(5-méthyl-isoxazol-3-yl)] méthyl] benzimidazole **7**
- 1-propargyl-2-[(5-méthyl-isoxazol-3-yl)] méthyl] benzimidazole **8**



2.2. Préparation du dipôle : le benzylazide 10

La méthode de synthèse du benzylazide 10 adoptée au cours de nos travaux est empruntée à Loubinox [24]. Elle met en jeu l'action du bromure de benzyle 9 sur l'azidure de sodium (NaN_3) en milieu eau-éthanol. (Schéma 3)



2.3. Réaction de cycloaddition dipolaire-1,3 du benzylazide 10 sur les dipolarophiles 2, 6, 7 et 8

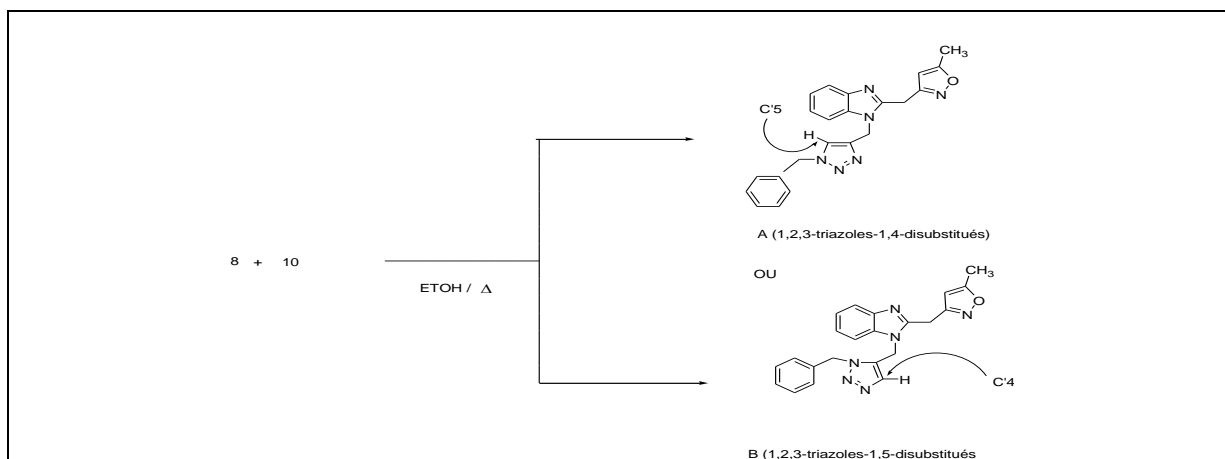
Afin d'obtenir des composés tricycliques qui devraient présenter des propriétés pharmacologiques intéressantes, les réactions de cycloaddition dipolaire-1,3 [25], du benzylazide 10 sur les N-alkyl-2-[(5-méthyl-isoxazol-3-yl)] méthyl] benzimidazole 2, 6, 7 et 8 ont été étudiées.

2.4. Détermination structurale des produits obtenus

La structure des produits obtenus a été élucidée grâce aux méthodes spectroscopiques (IR, RMN ^1H , RMN ^{13}C , Masse).

3. Résultats et discussion

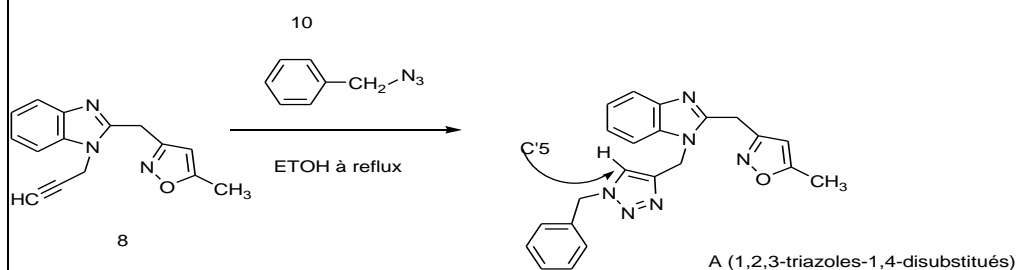
Le traitement des dipolarophiles 2, 6 et 7 par le benzylazide 10, laisse ces derniers inaltérés. Aucun de ces dipolarophiles n'a été affecté. Par contre, le dipolarophile 8 est le seul à réagir avec le benzylazide 10 pour conduire à un seul cycloadduit. Afin d'identifier la structure résultante, nous nous sommes basés sur les données spectrales de RMN ^1H , de RMN ^{13}C et de Masse. En effet, le spectre de Masse révèle le pic de l'ion moléculaire MH^+ à $m/z = 372$. Ce qui prouve l'intervention d'une seule molécule du dipôle. Son spectre de RMN ^1H se distingue particulièrement par la disparition des signaux du proton propargylique, au profit de l'apparition d'un singulet très déblindé à $\gamma = 8,14$ ppm, attribué au proton triazolique. Ce qui montre que la triple liaison est le siège de la réaction. Nous relevons également la présence des signaux relatifs au proton et au groupement méthyle isoxazoliques respectivement à 6,1 ppm et à 2,35 ppm sous forme de singulet. Quant aux signaux relatifs au méthylène en position 2 du benzimidazole, ils apparaissent sous la forme de multiplet centré à 4,46 ppm, alors que les méthylènes azoté et benzylique résonnent à 5,54 ppm. Les données de son spectre RMN ^{13}C viennent corroborer ces données en attestant la présence de trois groupements méthylène. Ainsi le méthylène en position 2 du benzimidazole résonne à 24,67 ppm, les signaux relatifs au méthylène en position 1 du benzimidazole sont observés à 38,20 ppm.



(Schéma 4)

De toutes les données spectroscopiques de IR, de RMN 1H, de RMN 13C et de Masse à notre disposition, seules les déplacements chimiques du CH triazolique, qui apparaissent à $\gamma = 123,55$ ppm en RMN 13C et $\gamma = 8,14$ ppm en RMN 1H, pourraient nous permettre de faire le choix entre l'isomère A et l'isomère B. Pour ce faire, nous avons comparé nos données expérimentales à celles de la littérature [29, 30]. Il en a résulté que le produit isolé est le régioisomère A (1,2,3-triazoles-1,4-disubstitués) ayant le CH triazolique en position 5 du cycle triazolique.

En somme nous retiendront le bilan réactionnel suivant (Schéma 5) :



3. Conclusion

Cette étude a montré une forte affinité du benzylazide avec la liaison triple. Cela nous a permis de préparer un dérivé benzimidazolique combinant l'isoxazole et les 1,2,3-triazoles-1,4-disubstitués. La structure obtenue pourrait être confirmée par d'autres méthodes (DFT, Diffraction RX, RMN 2d, chimie du clic

5. Bibliographie

- [1]. O'zden, S.; Karatas, H.; Yildiz, S.; Go'ker, H. Arch. Pharm., 2004, 337, 556–562.
- [2]. Easmon, J.; Puerstinger, G.; Roth, T.; Fiebig, H. H.; Jenny, M.; Jaeger, W.; Heinisch, G.; Hofmann, J. Int. J. Cancer, 2001, 94, 89–96.
- [3]. Zhu, X. K.; Guan, J.; Tachibana, Y.; Bastow, K. F.; Cho, S. J.; Cheng, H. H.; Cheng, Y. C.; Gurwith, M.; Lee, K. H. J. Med. Chem., 1999, 42, 2441–2446.
- [4]. Shafik, R. M.; El-Din, S. A.; Eshba, N. H.; El-Hawash, S. A.; Desheesh, M. A.; Abdel-Aty, A. S.; Ashour, H. M. Pharmazie, 2004, 59, 899–905.
- [5]. El-Naem, Sh. I.; El-Nzhawy, A. O.; El-Diwani, H. I.; Abdel Hamid, A. O. Arch. Pharm., 2003, 336, 7–17.
- [6]. Sbai, F.; Regragui, R.; Essassi, E. M.; Kenz, A.; Pierrot, M. Acta Cryst., 2003, E59, m571–m573.
- [7]. Sbai, F.; Regragui, R.; Essassi, E. M.; Kenz, A.; Pierrot, M. Acta Cryst., 2003, E59, m571–m573
- [8]. Sbai, F.; Chkirate, K.; Regragui, R.; Essassi, E. M.; Pierrot, M. Acta Cryst., 2002, E58, m337–m339.
- [9]. Baraldi, P. G.; Barco, A.; Benetti, S.; Pollini, G. P. & Simoni, D. Synthesis, 1987, pp 857–869.
- [10]. Boros, E. E., Johns, B. A., Garvey, E. P., Koble, C. S. & Miller, W. H. Bioorg. Med. Chem. Lett., 2006, 16, 5668–5672.
- [11]. Desai, K. G. & Desai, K. R. Bioorg. Med. Chem., 2006, 14, 8271–8279.
- [12]. Eddington, N. D., Cox, D. S., Roberts, R. R., Butcher, R. J., Edafiogho, I. O., Stables, J. P., Cooke, N., Goodwin, A. M., Smith, C. A. & Scott, K. R. Eur. J. Med. Chem., 2002, 37, 635–648.
- [13]. Kang, Y. K., Shin, K. J., Yoo, K. H., Seo, K. J., Hong, C. Y., Lee, C., Park, S. Y., Kim, D. J. & Park, S. W. Bioorg. Med. Chem. Lett., 2000, 10, 95–99.
- [14]. H. C. Kolb, K. B. Sharpless. Drug Discovery Today, 2003, 8, 1128-1137.
- [15]. (a) S. Velaquez, R. Alvarez, C. Perez, F. Gago, E. De Clercq, J. Balzarini, M. J. Camarasa., Antivir. Chem. Chemother, 1998, 9, 481-489. (b) M. Yokoyama, E. Nakao, K. Sujino, S. Watanabe, H. Togo. Heterocycles, 1990, 31, 1669-1671.
- [16]. M. D. Chen, S. J. Lu, G. P. Yuag, S. Y. Yang, X. L. Du. Heterocyclic Comm., 2000, 6, 421-426.
- [17]. Revues sur les 1,2,3-triazoles: (a) H. Wamho in Comprehensive Heterocyclic Chemistry, A. R. Katritzky, C. W. Rees, Eds., Pergamon, Oxford, 1984, 5, 669. (b) S. T. Abu-Orabi, M. A. Atfah, I. Jibril, F. M. Mari'I. J. Heterocyclic Chem., 1989, 26, 1461-1468. (c) H. Dehne in Methoden der Organischen Chemie, E. Schumann, Ed., Thieme, Stuttgart, 1994, 8, 305.
- [18]. S. S. Manfredini, C. B. Vicentini, M. Manfrini, N. Bianchi, C. Rutigliano, C. C. Mischiatì R., Gambari. Bioorg. Med. Chem., 2000, 8, 2343-2346.
- [19]. K. MasnaBanu, A. Dinakar, C. Anantharayanan. Indian J. Pharm. Sci., **1999, 4, 202-205.**

PHYTOCHIMIE ET ACTIVITE D'ANONNA SENEGALENSIS CONTRE LE SYNDROME HEMORAGIQUE CAUSE PAR LE VENIN DE BITIS RHINOCEROS (VIPERIDAE) EN CÔTE D'IVOIRE.

Golly Koffi Julien^{a, c}, Yapo-Crezoit Chiayé^a, Yobouet Dedrekwaku Camman Benoit^{a, d}, Akaffou Marc H^b, Siaka Sorho^c, Soro Yaya^c, Djaman Allico Joseph^d, Mireille Dosso^{a, b}

^aPôle de Biologie de l'Immunité, Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, 01 BP 490 Abidjan 01, Côte d'Ivoire

^bDépartement environnement et santé, Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, 01 BP 490 Abidjan 01, Côte d'Ivoire

^cLaboratoire des Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles, Institut National Polytechnique Félix HOUPHOUËT-BOIGNY, BP 1313 Yamoussoukro, Côte d'Ivoire

^dLaboratoire de Biotechnologies/pharmacologies des substances naturelles, Université Felix HOUPHOUËT BOIGNY, 01 BP V 34 Abidjan 01, Côte d'Ivoire

Les morsures de *Bitis Rhinoceros* provoquent en général un syndrome hémorragique chez les victimes. L'immunothérapie antivenimeuse demeure efficace. *Annona senegalensis* est utilisée en Côte d'Ivoire pour traiter des cas d'envenimations par les Viperidae. L'objectif de ce travail a été d'étudier la modulation de l'effet du venin de *Bitis rhinoceros* sur les paramètres de la coagulation par les feuilles d'*Annona senegalensis*. L'étude phytochimique de la plante a été réalisée suivie de celle de l'effet du venin sur trois paramètres de coagulation (TP, TCA, Fibrinogène) du sang de personnes saines en présence et en absence de l'extrait hydro-éthanolique. La phytochimie a mis en évidence la présence de saponines, de tanins, et des composés polyphénoliques dont les flavonoïdes, dans cette plante. L'étude de l'effet du venin a montré qu'à la concentration de 10^{-2} mg/mL le venin de *Bitis rhinoceros* modifie quelques paramètres de coagulation par la diminution de moitié du taux de prothrombine, l'augmentation du temps de coagulation. Il n'a aucun effet sur le taux de fibrinogène. L'effet de ce venin est inhibé par 1 mg/mL de l'extrait hydro-éthanoïque. Les feuilles d'*Annona senegalensis* contiennent des molécules qui pourraient neutraliser l'action du venin dans le trouble de la coagulation. Leur caractérisation s'avère très important.

Mots clés: *Bitis Rhinoceros*, *Annona senegalensis* ; coagulation ; phytochimie

PHYTOCHEMISTRY AND ACTIVITY OF ANONNA SENEGALENSIS AGAINST THE HEMORAGIC SYNDROME CAUSED BY THE VENOM OF BITIS RHINOCEROS (VIPERIDAE) IN CÔTE D'IVOIRE.

The bites of *Bitis Rhinoceros* generally cause a haemorrhage syndrome in the victims. Antivenom immunotherapy remains effective. *Annona senegalensis* is used in Côte d'Ivoire to treat cases of envenomation by Viperidae. The objective of this work was to study the modulation of the effect of *Bitis rhinoceros* venom on the parameters of coagulation by the leaves of *Annona senegalensis*. The phytochemical study of the plant was carried out followed by that of the effect of the venom on three coagulation parameters (TP, TCA, Fibrinogen) of the blood of healthy people in the presence and absence of the hydro-ethanolic extract. Phytochemistry has revealed the presence of saponins, tannins, and polyphenolic compounds including flavonoids in this plant. The study of the effect of venom has shown that at a concentration of 10^{-2} mg/mL the *Bitis rhinoceros* venom modifies some coagulation parameters by halving the prothrombin rate and increasing coagulation time. It has no effect on fibrinogen levels. The effect of this venom is inhibited by 1 mg/mL of the hydro-ethanoic extract. The leaves of *Annona senegalensis* contain molecules that could neutralize the action of the venom in the bleeding disorder. Their characterization is very important.

Keywords: *Bitis Rhinoceros*, *Annona senegalensis*; clotting; phytochemistry

Introduction

Parmi les maladies tropicales, les morsures de serpent sont reconnues comme problème majeur et considérées comme l'une des maladies négligées par l'Organisation mondiale de la santé [1]. Le nombre annuel de morsures de serpents dépasse 5 millions et le nombre de décès consécutif aux morsures de serpents est de 125 000 [2]. A ces chiffres, il faut ajouter 400 000 patients qui gardent des séquelles fonctionnelles graves : amputations, insuffisance rénale, séquelles neurologiques [3]. Les envenimations ophidiennes en Afrique représentent un problème de santé publique, par leur fréquence et leur gravité, mais également du fait des difficultés de leur prise en charge. Il y aurait par an, en Afrique plus d'un million de morsures de serpents suivies de 500 000 envenimations dont 20 à 30% graves, avec près de 25 000 décès. Dans certains pays africains, les morsures de serpents occasionnent plus d'un quart des

décès accidentels chez l'adulte [4]. Cependant, en Afrique Noire, seulement 15% des victimes sont hospitalisées et au plus 10% de celles qui le nécessitent bénéficient d'une immunothérapie antivenimeuse. Les vipérideas sont responsables de 90% des envenimations ophidiennes en Afrique tropicale, notamment en savane et dans le Sahel[5]. Parmi les espèces retrouvées on note une prédominance des *Bitis* et des *Echis*. Les *Bitis* occasionnent en généralement des morsures sévères [6] qui conduisent à la survenue rapide du syndrome hémorragique provoquée par l'envenimation. Ce syndrome hémorragique est dû à la dégradation des paramètres de l'hémostase ce qui conduit à la perte de la capacité de coagulation du sang de l'individu mordu. Cette envenimation nécessite un traitement rapide car elle a pour conséquence une amputation dû à une nécrose du membre mordu, et voir même la mort de l'individu. Malheureusement, le coût relativement élevé de la sérothérapie antivenimeuse rend le recours à ce traitement, inaccessible à la majeure partie sinon à la quasi totalité de la population africaine.

La richesse végétale est l'un des meilleurs moyens pour pallier à cette problématique car en médecine traditionnelle, les plantes sont très utilisées dans la formulation des recettes médicinales depuis des siècles [7]. L'usage de ces plantes dans les pays en développement connaît une importance sanitaire et économique croissante [8]. Un bon nombre de plantes ont été signalées comme ayant un bon potentiel pour le traitement des morsures de serpent. En Côte d'Ivoire, *Annona senegalensis* est l'une des plantes utilisées contre les morsures de vipéridés en milieu traditionnel. Pour justifier scientifiquement son usage thérapeutique en milieu traditionnel, cette étude a été menée. L'objectif de ce travail a été d'étudier la modulation de l'effet du venin de *Bitis rhinoceros* sur les paramètres de la coagulation par l'extrait hydro-éthanolique des feuilles d'*Annona senegalensis*.

Matériel et méthodes

1-Matériel

Le matériel utilisé dans cette étude est constitué:

- des feuilles d'*A. senegalensis*, qui ont été récoltées dans la région de Yamoussoukro, au centre de la Côte d'Ivoire. Ces feuilles ont été séchées à l'abri du soleil pendant deux semaines puis pulvérisées dans un broyeur électrique. Les poudres issues du tamisage à l'aide d'un tamis de 0,40 µm de diamètre sont conditionnées dans des sachets en polyéthylène puis conservées à 4°C jusqu'à leur utilisation ultérieure.
- de venin du serpent *B. arietans* (Viperidea) fourni par l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire ;
- de sang total de personnes saines, des deux sexes, âgées d'au moins 18 ans n'ayant pas été mordues par un serpent les six derniers mois.
- d'un certain nombre de solvants : l'éthanol, le méthanol, l'acétate d'éthyle, l'hexane, le dichlorométhane .

2- METHODES

2-2-Préparation de l'extrait éthanolique 70%

L'extraction a été réalisée selon la méthode de [9]Ackah *et al.*, 2008. En effet, 100 grammes de poudre végétale ont été dissout dans un mélange de 1000 mL de solvant constitué de 700 mL d'éthanol 96° et 300 mL d'eau distillée, puis homogénéisés dans un Blender à la température ambiante (25-30°C). L'homogénat obtenu a été d'abord essoré dans un carré de tissu blanc. Ensuite, doublement filtré sur du coton hydrophile et une fois sur du papier whatman 3 mm. Le filtrat obtenu a été évaporé à l'étuve à 50 °C pendant 48h. On obtient ainsi l'extrait brut hydro-éthanolique 70%. La masse d'extrait obtenu a été stockée dans des bouteilles stériles, propres, secs puis conservées à 4 °C pour une utilisation ultérieure.

2-3-Analyse Tri phytochimique des métabolites secondaires

L'analyse tri phytochimique est une méthode de caractérisation des principaux composés phytochimiques de la plante. Cette méthode a été réalisée sur l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de *Annona senegalensis*, selon le protocole de [10] Nemlin et Brunel (1995)

2-4-Test antihémorragique *in vitro*

2-4-1- Prélèvement et conditionnement des échantillons de sang

Le prélèvement a été effectué au pli du coude dans des tubes à bouchon bleus contenant du citrate de sodium (anticoagulant), au sein de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire à Cocody plus précisément à l'URAP (Unité de Réception et d'Accueil de Prélèvement). Ce sang prélevé est laissé reposer pendant

dix (10) minutes puis centrifugé à 3200 tours/min pendant cinq (5) minutes. Le plasma est par la suite recueilli dans des tubes à hémolyse pour les tests ultérieurs.

2-4-2-Tests d'hémostase ou de coagulation des sujets prélevés

La réalisation du test d'hémostase a concerné trois paramètres à savoir : le dosage du taux de prothrombine (TP), la recherche du temps de Céphaline activée (TCA) et le dosage du taux de fibrinogène.

2-4-3-Test de l'effet du venin sur les paramètres de l'hémostase

La réalisation du test a nécessité la préparation de quatre concentrations ($2 \cdot 10^{-1}$ mg/mL, 10^{-1} mg/mL, $2 \cdot 10^{-2}$ mg/mL, 10^{-2} mg/mL) de la solution de venin dans de l'eau physiologique. Toutes ces solutions ont été ensuite conservées à 4°C.

Le test a été réalisé selon la méthode de [11]Qi *et al.*, 2012. Il consiste à mettre en contact le venin et le plasma avant de doser les paramètres de coagulation de ce plasma.

2-4-4-Test de l'effet de l'extrait éthanolique 70% sur l'activité du venin vis-à-vis des paramètres de l'hémostase

Le test a été fait à partir deux solutions d'extrait de concentration 20mg/mL et 10mg/mL préparée avec de l'eau physiologique 0,9%.

Selon la même méthode de [11]Qi *et al.*, 2012, ce test a consisté à mettre d'abord en contact le venin et l'extrait pendant un temps, ensuite de les mélanger avec le plasma avant de doser les paramètres de coagulation.

2-5- Analyses statistiques

Les analyses statistiques des résultats expérimentaux ont été réalisées en utilisant le logiciel Graph PadPrism 8.4.3 (Microsoft, USA). Les valeurs sont présentées sous forme de moyenne \pm erreur standard. Les données ont été évaluées par la méthode d'analyse d'ANOVA one-way suivie du test de comparaison multiple de Tukey au seuil de 5% pour apprécier la signification des différences observées. Si $P < 0,05$ la différence entre les valeurs est considérée comme significative et si $P > 0,05$ cette différence n'est pas significative. En outre, les représentations graphiques ont été effectuées grâce au même logiciel.

II- Résultats

3- Composés phytochimique de l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de *A. senegalensis*

Le screening phytochimique a permis de mettre en évidence une variété de métabolites secondaires dans l'extrait hydro-éthanolique de feuilles. Les polyphénols, les flavonoïdes, les saponines et les tanins catéchines ont été révélés (**Tableau I**).

4- Valeurs des paramètres d'hémostase (TP, TCA et FIB) du plasma dans les différentes solutions obtenues.

Les valeurs des trois paramètres d'hémostase (**TP, TCA et FIB**) des différentes solutions sont résumés par les histogrammes représentées sur les **Figures 1; 2 et 3**.

La figure 1 qui présente l'histogramme du taux de prothrombine (TP) révèle que les valeurs normales de TP des hommes et des femmes sont respectivement de $101,2 \pm 3,16$ % et de $109,03 \pm 3,37$ %. L'extrait éthanolique 70% à 1 mg/mL ne modifie pas la valeur normale du TP des deux sexes. En présence du venin 10^{-3} mg/mL les valeurs TP sont pratiquement dans l'intervalle des valeurs normales de TP, alors qu'à la concentration de 10^{-2} mg/mL de venin, les TP sont réduits jusqu'en dessous de la moitié des valeurs de TP des personnes testées. Le venin pourrait dégrader la Prothrombine présente dans le plasma des hommes et des femmes à la concentration de 10^{-2} mg/mL. Mise en contact avec l'extrait éthanolique 70% à 1mg/mL pendant 15min, le venin n'a eu aucun effet sur la Prothrombine car elle n'a pas modifié les valeurs normales de TP. L'extrait éthanolique 70% inhiberait l'activité qu'a le venin dans la dégradation de la prothrombine.

Le Temps de Céphanie Activée (TCA) est résumé sur la figure 2. Cette figure indique que le temps de céphaline activée normal de la femme et de l'homme est respectivement de $27,20 \pm 0,44$ s et de $23,70 \pm 0,70$ s. L'extrait éthanolique 70% à 1 mg/mL n'a pas d'effet sur le TCA car il ne modifie pas la valeur normale du TCA des deux sexes. En présence du venin à 10^{-2} mg/mL les TCA des personnes testées

double. Le venin pourrait dégrader la protéine responsable de ce paramètre présente dans le serum des hommes et des femmes à la concentration de 10^{-2} mg/mL. Mise en contacte avec l'extrait éthanolique 70% à 1mg/mL pendant 15min, le venin n'a eu aucun effet car elle n'a pas modifié les valeurs normales de TCA. L'extrait éthanolique 70% inhiberait l'activité qu'a le venin dans la dégradation de la protéine responsable de ce paramètre.

La figure 3 qui traduit le taux de fibrinogènes du sérum, révèle que ce taux est de $3,03 \pm 0,06$ g/L chez la femme et de $1,73 \pm 0,29$ g/L chez l'homme. Ces valeurs de taux de fibrinogènes sont pratiquement restées identiques en présence de tous les produits testés. Le venin à 10^{-2} et 10^{-3} mg/mL et l'extrait à 1 mg/mL n'ont pas d'effet sur les fibrinogènes car ils ne modifient pas la valeur normale de ce paramètre.

Conclusion

L'objectif de ce travail a été d'étudier la modulation de l'effet du venin de *Bitis rhinoceros* sur les paramètres de la coagulation par les feuilles d'*Annona senegalensis*. La phytochimie a mis en évidence la présence de saponines, de tanins, et des composés polyphénoliques dont les flavonoïdes, dans cette plante. L'étude de l'effet du venin a montré qu'à la concentration de 10^{-2} mg/mL le venin de *Bitis rhinoceros* diminue de moitié le taux de prothrombine et augmentation le temps de céphaline activée. Il n'a aucun effet sur le taux de fibrinogène. L'effet de ce venin est inhibé par 1 mg/mL de l'extrait hydro-éthanoïque. Les feuilles d'*Annona senegalensis* contiennent des molécules qui pourraient neutraliser l'action du venin dans le trouble de la coagulation. Leur caractérisation et une étude *in vivo* sur ces même paramètre s'avère très important.

References

- 1-Organisation Mondiale de la Santé, 2017
- 2-Chippaux J.P., Goyffon M. 2000- Epidémiologie des envenimements dans le monde in G. Mion, M. Goyffon ; les envenimations graves ; Paris : Arnette : 1-7.
- 3 Pollet L., Ponchel C., Carpentier J.P. 2000 – Envenimation cobraïque in G Mion, M. Goyffon ; les envenimations graves ; Paris : Arnette, 53-64.
- 4-Einterz E., Bates M. 2003 – Snakebite in northern Cameroon : 134 victims of bites by the sawscaled or carped viper, *Echis ocellatus* ; Trans R Soc Trop Med Hyg ; 97 : 693-696.
- 5-Chippaux JP, Amadi-Eddine S & Fagot P. 1999. Diagnostic et surveillance des hémorragies dues aux envenimations vipérines en savane africaine. Bull Soc Pathol Exot.; 92 (2): 109-113.
- 6-Chippaux J.P., 2002 - Venins de serpent et envenimations. IRD, Paris, , 288 p.
- 7-Ahossi P, Dougnon TJ, Kiki P, Houessionon.J.2014. Synthèse des activités biologiques et de l'utilisation de *Tridax procumbens* en production animale et en médecine traditionnelle. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 8(4): 1476-1884.
- 8-Tabuti JR, Lye KA, Dhillion SS. 2003. Traditional medicine in Bulamogi county, Uganda: Its practitioners, users and viability, use and administration. *J. Ethnopharm*, 85: 119-129.
- 9- Ackah J. A. A. B., Kra A. K. M., Zirihi G. N. & Guédé-Guina F., 2008.- Evaluation de l'activité antifongique de tekam, un extrait de plante, sur la croissance *in vitro* de *candida albicans*. *Revue Ivoirienne Sciences Technologiques*, 11: 119-129
- 10-Nemlin J. Brunel J.F., 1995- Fascicule de Travaux Pratiques de Matière Médicale (3eme année). Université Nationale de Côte d'Ivoire. Faculté de Pharmacie. Département de Pharmacognosie. Laboratoire de Phytologie, 47p.
- 11-Qi X. Mao W. Chen Y. Chen y. Zhao C. Li N. Wang C. Yan M. Lin C. Chan J. (2012). Chemical characteristics of an anticoagulant active sulfated polysaccharide from *Enteromorpha clathrata*. *Carbohydrate polymers*, pp 1804- 1810

Qualité botanique, physicochimique, constituants chimiques et activité anti-antiradicalaire de *Euphorbia hirta* L (Euphorbiaceae), récoltée au Mali

Dembele Daouda L^{*1}, Doumbia Sékou¹, Mamadou Lamine Diarra¹, Sangare Ahmadou Pierre², Denou Adama¹, Haidara Mahamane¹, Sanogo Rokia^{1,2}

¹Faculté de Pharmacie, Université des Sciences des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB). BP 1805 Mali.

²Département de Médecine Traditionnelle, Bamako, BP 1746 Mali.

Email : drdembeled@gmail.com. Tel : 0022364533708 et 0022376249423

Résumé :

Au Mali, *Euphorbia hirta* est utilisée comme anti-diarrhéique et antidysentérique sous le MTA de spécialité Dysentral. Des travaux ont démontré ses propriétés sédatives, anticancéreuses, anti-inflammatoires et analgésiques.

Cette étude vise à déterminer les constituants chimiques et leurs activités antiradicalaires à partir de la plante entière, des parties aériennes et des racines récoltées au Mali.

Les échantillons ont été analysés pour déterminer leurs caractéristiques botaniques, physicochimiques et constituants chimiques selon les méthodes d'analyse des lignes directrices standard de l'OMS pour le contrôle de qualité des phytomédicaments. L'activité antiradicalaire des extraits a été évaluée par la méthode de réduction du radical DPPH.

Les éléments microscopiques communs sont des fibres, grains d'amidon et poils tecteurs. Les teneurs en eau étaient inférieures à 10 % et les cendres insolubles dans l'acide égales à 0,1%. Des composés phénoliques et triterpéniques ont été caractérisés. L'extrait hydroéthanolique de la plante entière a été le plus actif contre le radical DPPH indiquant son activité antioxydante. Ces constituants sont de bons marqueurs chimiques d'efficacité des extraits.

Les résultats vont contribuer à la monographie de la plante ; des investigations sont nécessaires pour isoler, identifier les marqueurs spécifiques des extraits et évaluer leurs activités, en particulier sur les cellules cancéreuses.

Mots clés : *Euphorbia hirta* ; Composés phénoliques ; activités antiradicalaires ; Mali.

Abstract :

In Mali, *Euphorbia hirta* is used as an anti-diarrheal and antidysenteric under the specialty MTA Dysentral. Work has demonstrated its sedative, anticancer, anti-inflammatory and analgesic properties.

This study aims to determine the chemical constituents and their antiradical activities from the whole plant, aerial parts and roots harvested in Mali.

The samples were analyzed for botanical, physicochemical and chemical constituents according to the analytical methods of the WHO standard guidelines for quality control of phytomedicines. The free radical scavenging activity of the extracts was evaluated by the DPPH radical reduction method.

The common microscopic elements were fibers, starch grains and tector hairs. Water contents were less than 10% and acid-insoluble ash equal to 0.1%. Phenolic and triterpene compounds were characterized. The hydroethanol extract of the whole plant was the most active against the DPPH radical indicating its antioxidant activity. These constituents are good chemical markers of effectiveness of the extracts.

The results will contribute to the monograph of the plant ; investigations are necessary to isolate and identify the specific markers and evaluate their activities and biotolerance especially on cancer cells.

Keywords : *Euphorbia hirta* ; phenolic compounds ; antiradical activities ; Mali.

1. Introduction

Euphorbia hirta est une euphorbiacée, très répandue dans toutes les régions tropicales et subtropicales du monde. C'est une petite herbacée à poils, érigée ou prostrée atteignant 20-40 cm de haut, pubescente, mince, se développant souvent près des sols humides, secs et ensoleillés. Les feuilles sont opposées, obliquement ovées à lancéolées et finement dentées. La tige principale est courte, avec des tiges secondaires présentant des renflements au niveau de nœuds. Elle se caractérise du point de vue botanique, par la présence de nombreux canaux lactifères renfermant un latex blanc riche en dérivés terpéniques^[1,2]. Plus particulièrement, la coupe de feuille montre des faisceaux libéro-ligneux (phloème et xylème) ainsi que des poils tecteurs ; celle de la tige montre du collenchyme, des cellules sclérifiées, des poils tecteurs pluricellulaires et unisériés, du parenchyme cortical, le phloème et le xylème^[1].

E. hirta occupe une place privilégiée dans diverses pharmacopées traditionnelles d'Asie orientale et d'Afrique tropicale. Elle est inscrite dans la pharmacopée de l'Afrique de l'Ouest depuis 2013^[2]. En médecine traditionnelle, elle largement utilisée pour des indications thérapeutiques très variées comme

les infections gastro-intestinales, respiratoires, hépatiques, cardiaques et génitales ; aussi pour ses effets diurétiques, galactogogues et sédatives ^[1, 2]. Elle est utilisée dans le traitement de la fièvre, la piqûre de scorpions, de la toux, de l'asthme bronchique paroxystique, de la dysenterie amibienne, le rhume des foins et des infestations de vers, pour traiter le pied l'athlète, la dysenterie, et autres affections cutanées ^[2]. La plante entière ou les parties aériennes seules (tiges feuillées, jeunes pousses, sommités fleuries) sont généralement employées dans des préparations absorbées oralement, mais aussi en lavement. La plante est souvent utilisée sous forme de décoction, mais aussi en infusion, sous forme de macérat, pulvérisée et dissoute dans de l'eau, bouillie dans de l'eau salée, ou encore en fumigation. En usage externe, la plante entière ou les parties aériennes (parfois les feuilles seules) sont utilisées sous diverses formes, en décoction, macération, pommade, pilée ou encore réduite en cendres. Elle est souvent appliquée localement, utilisée en bains, sous forme de cataplasmes ou en gargarismes ^[1].

Le criblage phytochimique de *Euphorbia hirta* a révélé la présence de métabolites primaires et secondaires comme des sucres réducteurs, des terpénoïdes, des alcaloïdes, des stéroïdes, des tanins, des protéines, des graisses, des huiles, des gommages, des mucilages, des glycosides, des saponines, des coumarines, des glycosides cardiaques, des anthraquinones, des flavonoïdes et des composés phénoliques ^[1, 2].

Euphorbia hirta a fait l'objet de nombreuses investigations pharmacologiques et biologiques dont certaines ont permis de confirmer la plupart des usages traditionnels ^[2]. Ainsi diverses activités lui sont attribuées, telles que des propriétés antalgiques, fébrifuges, anti-inflammatoires et cicatrisantes. Elle est utilisée en médecine allopathique et aussi en homéopathie, principalement pour le traitement de la dysenterie et de diverses affections respiratoires comme l'asthme ^[2]. *Euphorbia hirta* exerce une action antioxydante, antimicrobienne, anxiolytique, sédative, antiépileptique, analgésique central, antihistaminique, antiasthmatique, antidiabétique, anticancéreuse, gastro-intestinale, diurétique, antiparasitaire, immunologique, hépatoprotectrice, galactogène, inhibitrice de l'enzyme de conversion de l'angiotensine et antidipsogène ^[3]. La plante s'est avérée efficace *in vitro* et *in vivo* contre *Entamoeba*, l'agent causal de la dysenterie amibienne ^[4]. Les extraits aqueux et purifiés de latex ont une puissante activité molluscicide ^[5]. Des doses d'extraits à l'éthanol et au dichlorométhane de la plante entière administrées par voie orale à 100-400 mg/kg par jour ont donné une forte activité antiplasmodiale chez des souris infectées par *P. berghei* (IC₅₀ < 3g/mL) ^[2, 6]. L'extrait aqueux de feuilles a causé une diminution de la motilité gastro-intestinale chez des rats normaux et réduit l'effet de la diarrhée induite par l'huile de ricin chez les souris ^[2, 7]. Les extraits éthanoliques des parties aériennes ont montré une activité antimicrobienne à large spectre, en particulier contre *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* ^[8].

Les extraits aqueux de la plante ont fortement réduit la libération de prostaglandines I₂, E₂ et D₂ ; empêché l'agrégation plaquettaire et diminué la formation de l'œdème de la patte de rat induite par la carraghénine. Les extraits aqueux et éthanolique des feuilles ont montré un effet diurétique semblable à celui de l'acétazolamide. Les extraits éthanoliques ont été jugés agents antibactériens non-cytotoxiques et efficaces ^[2].

E. hirta est considérée comme une plante non toxique aux doses thérapeutiques car celles induisant la mortalité sont très élevées ^[1]. La DL₅₀ de l'extrait aqueux des feuilles chez le rat était > 3000 mg/kg. Des données toxicologiques n'ont pas rapporté de changements significatifs dans les ratios poids organe/poids corporel et la valeur hématologique. Cependant, une augmentation du taux d'AST et d'ALT a été observée dans des études de courte durée (300-3000 mg/kg) chez des rats sans effets négatifs significatifs sur la fonction rénale ^[2].

Euphorbia hirta est inscrite dans la pharmacopée de l'Afrique de l'Ouest depuis 2013. Cela a permis de relever les données de qualité, d'efficacité et de sécurité de ^[2].

Certaines de ces données ont été valorisées par la mise au point de formes galéniques anti-amibiennes à base de *Euphorbia hirta*, notamment dans certaines régions africaines. Il s'agit des spécialités DYSENTERAL au Mali, POUDRE E et AMIBEX au Burkina-Faso, MBALTISANE au Sénégal ^[9].

En outre, la plante est inscrite dans la pharmacopée de l'Afrique de l'Ouest dans la prise en charge de certaines maladies prioritaires comme le paludisme, les affections infectieuses et parasitaires ^[2].

Au Mali, la recherche sur les plantes médicinales a permis de découvrir les utilisations traditionnelles de *Euphorbia hirta* dans la prise en charge de diverses affections comme la diarrhée, le paludisme, comme galactogène, antidiabétique, antihypertenseur et contre les manifestations douloureuses et inflammatoires associées à l'arthrose. Dans la perspective de mise au point d'autres Médicaments

Traditionnels Améliorés, la présente étude vise à déterminer les paramètres botanique, physicochimique, les principaux constituants bioactifs et l'activité antiradicalaire des échantillons de la plante entière, les parties aériennes et des racines de l'espèce local.

Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal

Il est constitué de la plante entière, des parties aériennes et des racines de *Euphorbia hirta*. Les échantillons ont été récoltés à Bamako à la date du 15 avril 2018 et identifiés en référence à l'herbier n°952/DMT. Ils ont été séchés à la température ambiante (25° C à 30° C) et pulvérisés avec un broyeur tamiseur de type RETSCH SM 2000. Les poudres grossières obtenues ont été utilisées pour les différentes analyses.

2.2. Détermination des caractéristiques botaniques des échantillons

Elle a consisté à déterminer les éléments caractéristiques de la qualité botanique de la poudre de chaque échantillon que sont les caractères organoleptiques (couleur, odeur et saveur) et microscopiques ^[10, 11].

2.2.1. Caractères organoleptiques

Les caractéristiques organoleptiques des poudres ont été déterminées par l'appréciation à l'œil nu de la couleur ; de leur odeur en les approchant aux narines et de leur saveur en mettant sur le bout de la langue 2 g pendant 10 à 30 minutes.

2.2.2. Caractères microscopiques

Une petite quantité de chaque échantillon de poudre a été préparée avec le réactif de Gazet du Chatelier, montée entre lame et lamelle. Les éléments microscopiques ont été identifiés au microscope électronique binoculaire en utilisant l'objectif 40. Les éléments caractéristiques ont été photographiés en utilisant un téléphone portable de marque itél P51.

2.3. Détermination des paramètres physicochimiques des échantillons

Elle a consisté en la détermination des teneurs en eau et en cendres ^[11, 12, 13]. Les référentiels de tests d'identité et de pureté des organes de la plante selon la monographie décrite dans la pharmacopée de l'Afrique de l'Ouest sont : teneur en humidité (pas plus de 25% à 105 °C) ; cendres totales (pas plus de 13,6%) ; cendres insolubles dans l'acide (pas moins de 3%) ^[2].

2.3.1. Teneur en eau

La teneur en eau a été déterminée en utilisant une méthode gravimétrique : 5 prises d'essai de masse variant entre 1 et 2 g de poudres ont été introduites dans 5 creusets préalablement tarés. Les échantillons ont été ensuite séchés dans une étuve à la température de 103±2 °C pendant 24 heures. Les creusets ont été refroidis dans un dessiccateur et pesés. La perte de masse a été obtenue en faisant la moyenne des différences de masses obtenues avant étuve et après étuve des creusets. Le pourcentage de la teneur en eau a été déterminé par rapport à la moyenne des prises d'essai selon la formule suivante :

$$\text{Teneur en eau} = \frac{\text{masse en eau (g)}}{\text{masse moyenne de prise d'essai (g)}} \times 100$$

avec : Masse en eau = masse avant dessiccation – masse après dessiccation

2.3.2. Teneurs en cendres

2.3.2.1. Cendres totales :

Les poudres débarrassées d'eau et séchées au cours de la détermination de la teneur en eau ont été calcinées dans un four à 600 °C pendant 6 heures. Après refroidissement dans un dessiccateur, les cendres ont été pesées. La teneur en cendre totale a été obtenue par le rapport de la masse de cendres totales sur la masse de prises d'essai exprimée en pourcentage selon la formule ci-après :

$$\text{Cendres totales (\%)} = \frac{\text{masse de cendres totales (g)}}{\text{masse de prises d'essai (g)}} \times 100$$

Masse de cendres totales = masse après calcination – tare

Masse de prise d'essai = masse avant calcination – tare

2.3.2.2. Teneur en cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique :

Les cendres totales obtenues ont été reprises avec 20 mL d'acide chlorhydrique à 10%. L'ensemble a été porté à l'ébullition au bain-marie pendant 15 minutes. La solution obtenue a été filtrée. Le résidu a été recueilli sur un filtre sans cendres placé dans un creuset taré et calciné au four à 600°C pendant 6 heures. Le creuset a été refroidi dans un dessiccateur. La teneur en cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique à 10% a été donnée par le rapport de la masse en cendres obtenues sur la masse totale de prise d'essai exprimée en pourcentage par la formule suivante :

$$\text{Cendres insolubles dans HCl 10\% (\%)} = \frac{\text{masse de cendres chlorhydriques (g)}}{\text{somme de masses de prise d'essai (g)}} \times 100$$

avec : Masse de cendres chlorhydriques = masse après calcination – tare

2.4. Détermination des substances extractibles par les solvants

Elle a consisté à déterminer les substances qui sont extraites par l'eau, l'éthanol 70 % et l'éther de pétrole [11]. Les référentiels sont : substances extractibles par l'eau (pas moins de 17,0%) ; substances extractibles par l'éthanol dilué à 70% (pas moins de 11,5%) [2].

2.4.1. Substances extractibles par l'eau

Pour chaque échantillon, un décocté à 5 % a été préparé en faisant bouillir 1 g de poudre dans 20 mL d'eau distillée pendant 15 minutes. Le filtrat obtenu a été introduit dans une capsule préalablement tarée et évaporé à sec dans l'étuve à 105°C. La masse du résidu a été déduite après refroidissement. Le pourcentage de substances extractibles par l'eau a été donné par la formule suivante :

$$\text{Substances extractibles (\%)} = \frac{\text{masse après étuve (g)} - \text{tare (g)}}{\text{masse de prise d'essai (g)}} \times 100$$

2.4.2. Substances extractibles par l'éthanol 70% et l'éther de pétrole

Elles ont été déterminées à partir de macérâts à 5 % obtenus en laissant en contact pendant 24 heures 1 g de poudre dans 20 mL d'éthanol dilué à 70 % ou d'éther de pétrole. Les filtrats ont été évaporés, la masse du résidu déduite et le pourcentage de substances extractibles par chaque solvant a été calculé comme précédemment.

2.5. Préparation des extraits

Pour chaque échantillon, des extraits aqueux (décoction, infusion) et hydroéthanolique (macération à l'éthanol 70%) ont été préparés. Ces trois types d'extractions ont été choisis en tenant compte des données de la littérature [2] et des formes traditionnelles utilisées (qui sont des tisanes).

2.5.1. Décoction : 5 g de poudres végétales ont été mis en ébullition dans 50 mL d'eau distillée pendant 15 minutes. Le filtrat obtenu a été concentré à l'évaporateur rotatif à la température de 50 °C puis lyophilisé après congélation.

2.5.2. Infusion : 5 g de poudres a été ajoutés dans 50 mL d'eau distillée bouillante et laissés infuser pendant 15 minutes. Le filtrat obtenu a été concentré puis lyophilisé comme précédemment.

2.5.3. Macération à l'éthanol 70% : 5 g de poudres a été laissés macérer dans 50 mL d'éthanol dilué à 70% sous une agitation simple de 24 heures à la température du laboratoire (25-30 °C). Le filtrat obtenu a été concentré et lyophilisé dans les mêmes conditions précédentes.

Le rendement de chaque type d'extraction a été déterminé en appliquant la formule suivante :

$$\text{Rendement} = \frac{\text{masse de l'extrait obtenu (g)}}{\text{masse de la prise d'essai (g)}} \times 100$$

2.6. Caractérisation des principaux constituants phytochimiques des extraits

Les principaux constituants phytochimiques des extraits ont été mis en évidence par des réactions classiques colorées et de précipitation en tubes [12]. Ainsi, ont été mis en évidence les caroténoïdes (Réaction de Carr et Price) ; les coumarines (ammoniaque) ; les leucoanthocyanes (alcool chlorhydrique et alcool isoamylique) ; les quinones (réactif de Bornsträger) ; flavonoïdes (réaction de la cyanidine) ; stérols et triterpènes (réaction de Libermann-Buchard) ; mucilages (éthanol absolu) ; oses et holosides

(H₂SO₄ concentré et alcool saturé avec du thymol), les tanins (trichlorure ferrique à 10%), les saponosides (pouvoir aphrogène). Les résultats ont été notés en réaction positive (+) et négative (-).

2.7. Evaluation de l'activité antiradicalaire des extraits

L'activité antiradicalaire des extraits a été évaluée en utilisant le test de réduction du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) par chromatographie sur couche mince (test qualitatif) et la spectrophotométrie ultraviolette (test quantitatif) [11, 12, 14].

- **Test qualitatif :** 10 mg de chaque extrait a été dissous dans 1 mL de méthanol et 10 µL de solution a été déposé sur des plaques silicagel 60 F254 puis migrées dans le système de solvant : Acétate d'éthyle – Acide formique – Eau (60 : 10 : 10). Les plaques chromatographiques ont été révélées par une solution méthanolique de DPPH (2 mg/mL). Les constituants présentant une activité antiradicalaire anti-DPPH apparaissent sous forme de taches de couleur jaune sur fond violet. Le rapport frontal (R_f) des constituants a été calculé en appliquant la formule suivante :

$$\text{Rapport frontal} = \frac{\text{distance parcourue par la substance}}{\text{distance parcourue par l'éluant}}$$

- **Test quantitatif :** Les concentrations efficace 50 (CE₅₀) des extraits les plus riches en constituants antiradicalaires anti-DPPH ont été déterminées au spectrophotomètre : une gamme de concentration des extraits comprise entre 31,25 – 1000 µg/mL a été obtenue par des dilutions. Pour le test, 700 µL de chaque dilution ont été mélangé avec 1400 µL d'une solution de DPPH (0,025g/L). Les échantillons ont été incubés pendant 30 mn à la température ambiante à l'abri de la lumière puis l'absorbance a été mesurée à 517 nm au spectrophotomètre (6705 UV / VIS Spectrophotomètre JENWAY). Le méthanol a été utilisé comme contrôle négatif et l'acide gallique comme contrôle positif. Le pourcentage de réduction du radical DPPH a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{\text{absorbance contrôle négatif} - \text{absorbance des échantillons}}{\text{absorbance contrôle négatif}} \times 100$$

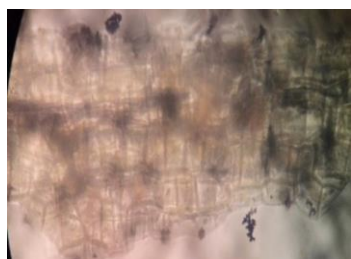
La CE₅₀ (concentration efficace 50) des extraits et de l'acide gallique a été déterminée à l'aide de courbe de régression linéaire en utilisant le logiciel Graphpad prisme version 6.0.

2. Résultats et discussion

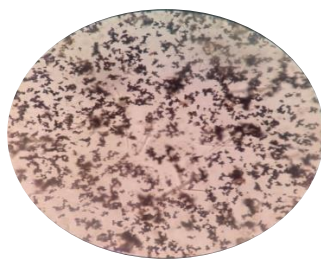
3.1. Caractéristiques botaniques des poudres

La poudre est de couleur verdâtre pour la plante entière et les parties aériennes et jaune-verdâtre pour les racines. Elle est de saveur amère et d'odeur non caractéristique pour les trois échantillons. Ces caractéristiques sont en accords avec ceux décrits dans la pharmacopée de l'Afrique de l'Ouest pour les parties aériennes [2].

La poudre des échantillons contient en communs des fibres, des grains d'amidon et des poils tecteurs (figures 1). Ces éléments ont été rapportés dans la pharmacopée de l'Afrique de l'Ouest concernant les parties aériennes [2]. Par ailleurs, des parenchymes ont été retrouvés seulement dans la plante entière et des fibres contenant des prismes d'oxalate de calcium uniquement dans les racines (figures 2). Les données de qualité botanique sur les racines et la plante entière n'ont jamais été rapportées. Les caractéristiques identifiées pourraient donc aider à compléter les données existantes de la plante, notamment pour la plante entière et les racines.



Fibres

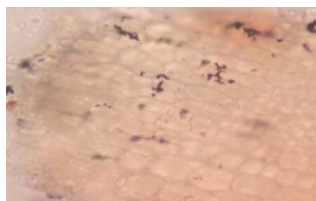


Grains d'amidon



Poils tecteurs

Figures 2 : Eléments microscopiques communs aux trois échantillons



Parenchymes
(Plante entière)



Fibres contenant des prismes d'oxalate de calcium
(Racines)

Figures 3 : Eléments microscopiques spécifiques à la plante entière et des racines

3.2. Paramètres physicochimiques

Les teneurs en eau, cendres totales et cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique à 10 % sont reportées dans le tableau I. Elles sont toutes relativement faibles et inférieures aux données de la monographie de la plante contenues dans la pharmacopée de l'Afrique de l'Ouest [2]. Les faibles valeurs en eau et en cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique à 10 % constitueraient de bons indicateurs de qualité des échantillons [15]. En effet, une teneur en eau élevée (généralement supérieure à 10%) favorise la croissance des bactéries, des levures ou des champignons pendant le stockage du matériel végétal qui sont des phénomènes pouvant altérer le principe actif [11]. La teneur en cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique suggère que les échantillons contiennent très peu d'éléments siliceux (poussière et le sable) qui sont préjudiciables à la qualité et à l'activité des extraits [16, 17]. Cependant les faibles teneurs enregistrées en cendres totales pourraient enregistrer l'appauvrissement des échantillons en élément minéraux [16].

Tableau I : Teneurs en eau, cendres totales et cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique à 10% des parties aériennes, de la plante entière et des racines.

Substances dosées	Teneurs dans les échantillons (%)		
	Parties aériennes	Plante entière	Racines
Eau	2,6	2,7	2,8
Cendres totales	3,7	3,7	3
Cendres insoluble dans HCl 10%	0,1	0,1	0,1

3.3. Substances extractibles par les solvants

Le pourcentage de substances extraites par chaque solvant est indiqué dans le tableau II. Le plus haut taux a été obtenu avec l'éthanol à 70 % dans la plante entière (15 %). Ce résultat respecte les données contenues dans la pharmacopée de l'Afrique de l'Ouest [2] et indiquerait l'éthanol 70 % comme solvant organique idéal pour extraire une grande majorité de constituants de la plante entière. Cependant les faibles pourcentages enregistrés avec l'eau (< 10 %) dans tous les organes sont en désaccords avec la littérature [2]. L'éther de pétrole a extrait le plus bas taux de substances extractibles dans tous les échantillons (pas plus de 3 %). Ce qui suggérerait une très faible solubilité des constituants phytochimiques des échantillons dans les solvants organiques apolaires.

Tableau II : Pourcentages de substances extractibles par l'eau, l'éthanol à 70 % et l'éther de pétrole.

Echantillons	Substances extractibles par les solvants (%)		
	Eau	Ethanol à 70 %	Ether de pétrole
Parties aériennes	8	3	2
Plante entière	5	15	3
Racines	3	1	1

3.4. Rendement d'extraction

Les meilleurs rendements d'extraction est obtenu avec les extraits aqueux (décoction et l'infusion) pour tous les organes ; les plus élevés étant obtenus avec la plante entière (17 % ; 18 %). Cela est accord avec les formes traditionnelles d'utilisations qui sont des tisanes (décoction, infusion) ^[2].

Tableau III : Rendement d'extraction par l'eau et l'éthanol 70 %.

Type d'extrait	Rendements (%)		
	Plante entière	Parties aériennes	Racines
Infusé à 5 %	17,00	11,60	3,20
Décocté à 10 %	18,20	13,60	8,20
Macérât à l'éthanol 70 %	5,20	3,60	3,20

3.5. Principaux constituants phytochimiques des extraits

Les principaux constituants phytochimiques mise en évidence sont représentés dans le tableau IV. Les tanins, les oses et holosides, les mucilages, les stérols et triterpènes, les leucoanthocyanes ont été caractérisés dans tous les échantillons. Les flavonoïdes et les caroténoïdes étaient absents dans les racines seulement. Ces données diffèrent de celles de la littérature par l'absence d'alcaloïdes, de coumarines, d'anthocyanes et de saponines ^[2]. Cette différence pourrait être entre autres par la période, le lieu et le moment de récolte des échantillons ^[18].

Tableau IV : Principaux constituants phytochimiques mis en évidence.

Groupes phytochimiques	Plante entière	Parties aériennes	Racines
Caroténoïdes	+	+	-
Flavonoïdes	+	+	-
Tanins	+	+	+
Oses holosides	+	+	+
Mucilages	+	+	+
Stérols et triterpènes	+	+	+
Leuco anthocyanes	+	+	+

3.6. Activité anti-radicalaire des échantillons

• Test qualitatif

La chromatographie sur couche mince a permis de mettre en évidence des constituants actifs contre le radical libre DPPH. Les extraits éthanoliques (macération à l'éthanol dilué à 70%) sont les plus riches en constituants anti-DPPH notamment pour les parties aériennes et les racines (figure 3). Les principaux R_f enregistrés sont rapportés dans le tableau V.

Tableau V : R_f des constituants possédant une activité antiradicalaire anti-DPPH.

Organes	Extraits	R _f des constituants
Plante entière	Décocté à 10 %	0,11 ; 0,18 ; 0,30 ; 0,41 ; 0,50 ; 0,60 ; 0,65 ; 0,70 ; 0,72 ; 0,78 ; 0,85 ; 0,90 ; 0,97.
	Macérât à l'éthanol 70 %	0,07 ; 0,17 ; 0,28 ; 0,51 ; 0,58 ; 0,67 ; 0,72 ; 0,80 ; 0,86 ; 0,91 ; 0,97.
Parties aériennes	Macérât à l'éthanol 70 %	0,22 ; 0,45 ; 0,70 ; 0,77 ; 0,84 ; 0,88 ; 0,93 ; 0,99.
Racines	Macérât à l'éthanol 70 %	0,13 ; 0,21 ; 0,30 ; 0,41 ; 0,51 ; 0,61 ; 0,66 ; 0,71 ; 0,80 ; 0,83 ; 0,91 ; 0,96.

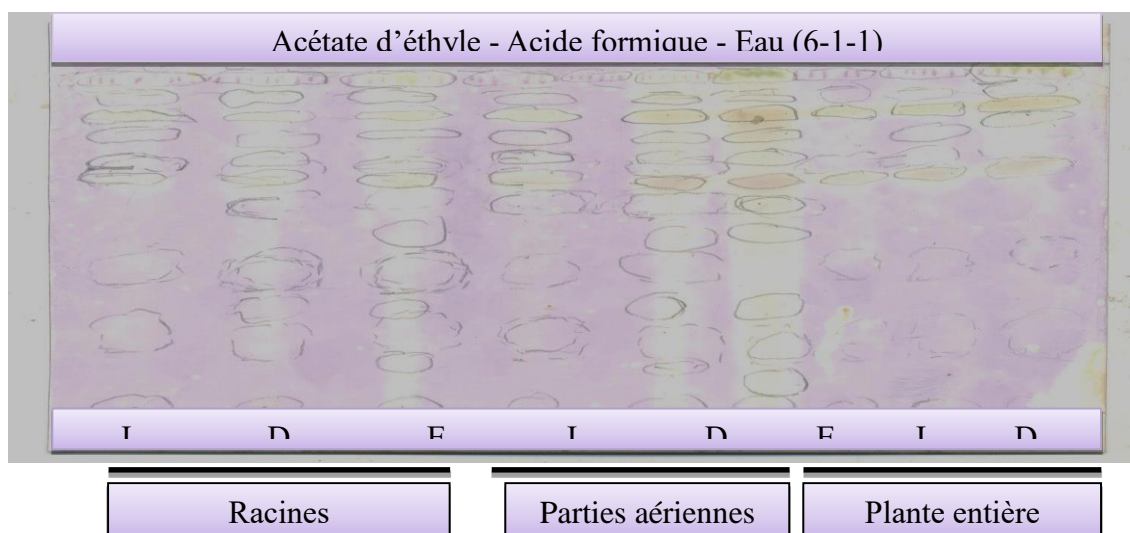


Figure 4 : Plaque CCM des extraits de racines, partie entière et plante entière, révélées avec le DPPH. (I : Infusé ; D : Décocqué ; E : Extrait éthanologique 70 %).

- **Test quantitatif : spectrophotométrie**

La concentration efficace 50 (CE₅₀) des extraits éthanologiques sont reportés dans le tableau VI suivant :

Tableau VI : Concentration efficace (CE₅₀) des extraits éthanologiques.

Drogues	CE ₅₀ (µg/mL)
Racines	351,1
Parties aériennes	106,4
Plante entière	77,23

La meilleure activité est obtenue par l'extrait éthanologique de la plante entière avec une valeur de CE₅₀ de 77,23 µg/mL. Cette activité pourrait être dû à la présence de composés antiradicalaires phénoliques comme les tanins, flavonoïdes et de caroténoïdes qui ont été mis en évidence dans les extraits. En effet, les activités antiradicalaires des extraits de *E. hirta* ont été rapportée dans la littérature [1,2]. Cette activité antiradicalaire, antioxydante pourrait être bénéfique dans la prévention entre autres des cancers, des affections douloureuses et inflammatoires. Le rôle des radicaux libres dans la pathogenèse des cancers a été montré [19]. En effet, ils peuvent provoquer soit des dommages sur l'ADN et ARN, des instabilités chromosomiques, et ou altérer l'expression des gènes. Les propriétés antalgiques centraux, anti-inflammatoires et antimicrobiennes des extraits de la plante ont été démontré et pourraient être aussi bénéfique dans la prise en charge des cancers et des douleurs arthrosiques. Aussi, des travaux ont rapporté l'implication du stress oxydant aux phénomènes inflammatoires et douloureux articulaires par la production d'éléments pro-inflammatoires comme les polynucléaires neutrophiles et autres médiateurs inflammatoires [20, 21]. D'autres travaux ont démontré les activités antalgiques et anti-inflammatoires composés triterpéniques [22, 23, 24].

3. Conclusion

Les caractéristiques botaniques et les paramètres physicochimiques vont contribuer à la monographie notamment de la plante entière et des racines. Les flavonoïdes et les tanins à activités antiradicalaires et les triterpènes peuvent être aussi des marqueurs chimiques de qualité et d'efficacité de l'extrait hydroéthanologique de la plante entière de *Euphorbia hirta*, justifiant en partie ses utilisations pour la prévention de certaines affections inflammatoires et douloureuses comme l'arthrose et les cancers. En perspectives, il s'agira d'identifier et d'isoler les composés phénoliques et triterpéniques spécifiques des extraits de la plante entière et de mener des investigations précliniques, en particulier sur des cellules cancéreuses.

4. Bibliographie

- [1]. Lanhers, M.C., Nicolas J.P., Fleurentin, J., Weniger, B. (2005). Monographie de plante : *Euphorbia hirta* L. *Ethnopharmacologia*, n°36, 9-23.
- [2]. PAO. (2013). Pharmacopée d'Afrique de l'Ouest, Kumasi, 1er Volume, 82-86.
- [3]. Al-Snafi, AE. (2017). Pharmacology and therapeutic potential of *Euphorbia hirta* (Syn : *Euphorbia pilulifera*). *A review. IOSR Journal Of Pharmacy*. Volume 7, Issue 3 Version. 1, 7-20.
- [4]. Evans, W.C. (2009). Trease and Evans Pharmacognosy, 15th ed., 492. Saunders : London, UK. 571-603.
- [5]. Singh, S.K., Yadav, R.P., Singh, D., Singh, A. (2004). Toxic effect of two common Euphorbiales lattices on the freshwater snail *Lymnaea acuminata*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 15:87-93.
- [6]. Tona, L., Cimanga, R.K., Mesia, K., Musuamba, C.T., De Bruyne, T. *et al.* (2004). *In vitro* activity of extracts and fractions from seven medicinal plants used in the Democratic Republic of Congo, *Journal of Ethnopharmacology*, 93:27-32.
- [7]. Hore, S.K., Ahuja, V., Mehta, G., Kumar, P. *et al.* (2006). Effect of aqueous *Euphorbia hirta* leaf extract on gastrointestinal motility. *Fitoterapia* 77:35-38.
- [8]. Sudhakar, M., Rao, C.V., Rao, P.M., Raju, D.B. *et al.* (2006). Antimicrobial activity of *Caesalpinia pulcherrima*, *Euphorbia hirta* and *Asystasia gangeticum*. *Fitoterapia* 77:378-380.
- [8]. Djoko, E., Chougou, R.D., Ngondji, T. et Wouessidjewe, D. (2018). Formulation d'un médicament traditionnel amélioré à visée anti-amibienne à base de *Euphorbia hirta* Linn. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 12(2): 659-667.
- [10]. Organization WH, 2011, Quality control methods for herbal materials, *World Health Organization*, 187p.
- [11]. Haïdara M, Dénou A, Tienou MH, Ly M, Kamaté B, Djimé A, Sanogo R. (2022). Etude pharmacognosique de trois Combretaceae, utilisées en médecine traditionnelle dans la prise en charge de cancers au Mali, *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, 051(1), 31 – 37.
- [12]. Sanogo R., Doucouré M., Fabre A., Haïdara M., Diarra B., Dénou A., Kanadjigui F., Benoit V.F., Diallo D., 2014, Standardisation et essai de production industrielle d'un sirop antipaludique à base d'extraits de *Argemone mexicana* L, *Revue CAMES – Série Pharmcopée et Médecine Traditionnelle Africaine*, 17(1), 15-20.
- [13]. Dembélé, D.L., Haidara, M., Denou, A. et Sanogo, R. (2021). Etude phytochimique des écorces de racines et des feuilles de *Securidaca longipedunculata* (Fresen), Polygalaceae Au Mali. *European Scientific Journal*, ESJ, 17(29), 145-156.
- [14]. Zongo C, Savadogo A, Ouattara L, Bassole IHN, Ouattara CAT, Ouattara AS, *et al.* Polyphenols content, antioxidant and antimicrobial activities of *Ampelocissus grantii* (Baker) Planch. (Vitaceae): a medicinal plant from Burkina Faso. *IJP-International Journal of Pharmacology*. 2010;6(6):880-887.
- [15]. Blond A, Boutefnouchet S, Cachet X, Cottet K, Genta-Jouve G, Grougnet R, Kritsanida M, Porée FH. (2014). Guide de Travaux Pratiques de Pharmacognosie, 3^{ème} année. Université Paris Descartes, France. 22p.
- [16]. Chanda, S. (2014). Importance of pharmacognostic study of medicinal plants: An overview. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(5):69- 73.
- [17]. Boutefnouchet, S. (2017). Introduction à la phytochimie, Methodes innovantes d'extraction, de purification et d'identification de composés (dereplication). UE-Faculté de Pharmacie, Université Paris Descartes, Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, 63p.
- [18]. Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, *Lavoisier 4^{ème} éditions, revue et augmentée*, Paris, 1292p.
- [19]. Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM, Aggarwal BB. (2010). Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? *Free Radical Biology and Medicine*, 49(11):1603-1616.
- [20]. Pasquier, C. (1995). Stress oxydatif et inflammation. *Revue Française des Laboratoires*, 1995(276), 87-92.
- [21]. Efron, D. T. & Barbul A. (1998). Modulation of inflammation and immunity by arginine supplements. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 1(6), 531-538.
- [22]. Okoli, C. O., Akah, P. A. and Ezugworie, U. (2006). Anti-inflammatory activity of extracts of root bark of *Securidaca longipedunculata* fres (polygalaceae). *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 3(1), 54- 63.
- [23]. Alafe, A. O., Elufioye, T. O., Faborode, O. S., & Moody, J. O. (2014). Anti-Inflammatory and Analgesic Activities of *Securidaca longipedunculata* Fers (Polygalaceae) Leaf and Stem Bark Methanolic Extract. *Journal Africain de Recherche Biomédicale*, 17(3), 18-191.
- [24]. Mongalo, N. I., McGaw, L. J., Finnie, J. F., & Van Staden, J. (2015). *Securidaca longipedunculata* Fresen (Polygalaceae) : A review of its ethnomedicinal uses, phytochemistry, pharmacological properties and toxicology. *Journal of Ethnopharmacology*, 165(1), 215-226.

Synthèse et évaluation de l'activité antibactérienne de dérivés du 4,5-diphényl-1H-imidazole

Coulibaly Bamoro^{1,2}, Fanté Bamba^{1*}, Aurélie Vallin², Vincent Chagnault²

¹Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière, Université Félix Houphouët-Boigny, 22 BP 582 Abidjan 22, COTE D'IVOIRE

²Laboratoire de Glycochimie, des Antimicrobiens et des Agroressources (LG2A), UMR 7378 CNRS, Université de Picardie Jules Verne, 33 rue Saint Leu, F-80039 Amiens Cedex, France
fante_bamba1@yahoo.fr

Groupe thématique 2 : Réseau des substances biologiquement actives Ouest-Africain (ReSBOA : GT 2)

Résumé

Les maladies infectieuses figurent aujourd'hui parmi les premières causes de décès dans le monde. Leur prise en charge devient récurrente et s'accroît parce qu'elles sont devenues un problème de santé publique dans toutes les régions africaines. La crise de la COVID-19 a rappelé qu'il est indispensable de s'impliquer dans l'élaboration de nouvelles molécules bioactives en infectiologie. Pour contribuer à cette recherche, nous avons élaboré de nouvelles molécules à visée anti-infectieuse. Ces molécules sont synthétisées par couplage du 4,5-diphényl-1H-imidazol-2-thiol avec des bromures de benzyles et des 2-(chlorométhyl)benzimidazoles diversement substitués. Nous avons ainsi obtenu douze dérivés du 4,5-diphényl-1H-imidazole dont les structures ont été confirmées par les méthodes spectroscopiques. Dix des composés ont fait l'objet de tests antibactériens contre *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis*. Parmi eux, deux ont montré une bonne activité antibactérienne sur *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis*. Les travaux entrepris nous ont donc permis d'obtenir de nouveaux dérivés dont certains possèdent de bonnes activités antibactériennes. Nous envisageons pour la suite, d'étendre les tests biologiques des dérivés déjà synthétisés aux activités anthelminthiques et antifongiques. Il s'agira de remplacer le benzimidazole de ces dérivés par leurs analogues benzothiazole et benzoxazole puis d'évaluer les activités des nouveaux dérivés ainsi synthétisés.

Mots clés : synthèse ; imidazole ; benzimidazole ; antibactérienne

Synthesis and evaluation of antibacterial activity of 4,5-diphenyl-1H-imidazole derivatives

Abstract

Infectious diseases are now among the leading causes of death in the world. Their care becomes recurrent and increases that they have become a public health problem in all African regions. The COVID-19 pandemic has reminded us that we should get involved in the development of new bioactive molecules in infectiology. To contribute to this research, we have developed new anti-infectious molecules. These molecules were synthesized by coupling 4,5-diphenyl-1H-imidazole-2-thiol with benzyl bromides and variously substituted 2-(chloromethyl)benzimidazoles. Thus, twelve 4,5-diphenyl-1H-imidazole derivatives were obtained, their structures were confirmed by spectroscopic analysis methods. Ten of them were tested to investigate their antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecalis*. Of these least, two showed a good antibacterial activity on *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecalis*. In this work, we were able to obtain new derivatives compounds, some of which have good antibacterial activities. Next, it will be question of extending the biological tests of the already synthesized derivatives to anthelmintic and antifungal activities. It will also necessary to replace the benzimidazole of these derivatives with their benzothiazole and benzoxazole analogues and then evaluate the activities of the novel synthesized derivatives.

Key words: synthesis ; imidazole ; benzimidazole ; antibacterial

1. Introduction

Les maladies infectieuses, ensemble de maladies causées par les micro-organismes pathogènes (bactéries, virus, parasites ou champignons), posent aujourd'hui un problème majeur de santé publique [1,2]. Une étude réalisée en 2014 a révélé l'aggravation des risques causés par les maladies infectieuses d'ici 2025 [3]. Cette étude a également montré que 50% de la population sera soumise au risque de maladies infectieuses émergentes ou ré-émergentes. Celles-ci entraîneront près de 14 millions de morts par an dont la principale sera le paludisme, qui représentera à elle seule 135 à 287 millions de cas et 500 à 800 milles morts par an. Les rapports des cinq dernières années de l'OMS sur la santé dans le monde ont souligné la gravité de la situation. Les maladies infectieuses ont représenté 90% des décès à la fin du 20ème siècle. Face à cette situation, la chimiothérapie reste une des armes essentielles. Mais la perte

d'efficacité de certains médicaments utilisés dans les traitements actuels, l'apparition de nouvelles maladies et les phénomènes de pharmaco-résistance des micro-organismes pathogènes pourraient aggraver cette situation [4]. Il est donc nécessaire et urgent de mettre au point de nouveaux médicaments en particulier ceux qui ont une nouvelle cible et/ou la capacité de surmonter les résistances.

Des travaux de recherches indiquent que les composés ayant le squelette imidazole ou benzimidazole (**Figure 1**) dans leurs structures, possèdent d'excellentes activités telles que : les activités anticancéreuse, anti-inflammatoire, antibactériennes, antivirale, antiparasitaire, anthelminthique etc [5–9].

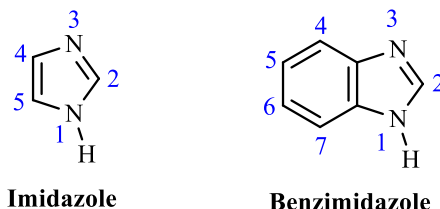


Figure 1 : Structures des noyaux imidazole et benzimidazole

De ce fait, les dérivés de ces noyaux constituent un potentiel atout pour la lutte contre les maladies infectieuses (**Figure 2**).

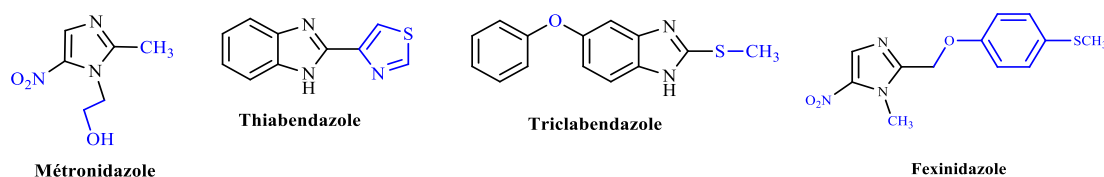


Figure 2 : Structures de quelques dérivés anti-infectieux à support imidazole et benzimidazole

Dans la présente étude, nous avons synthétisé de nouveaux composés antibactériens potentiels à partir de modulations chimiques entreprises en position -2 du 4,5-diphényl-1*H*-imidazol-2-thiol. D'abord, ces composés ont été conceptualisés. Ensuite, nous les avons synthétisés puis caractérisés par les méthodes d'analyses spectroscopiques. Enfin, nous avons évalué leurs activités antibactériennes. Les résultats de ce travail pourraient contribuer à la mise à disposition des praticiens de nouvelles molécules antibactériennes, innovantes et plus efficaces.

2. Matériels et méthodes

2.1. Généralités

Les produits ont été caractérisés par les méthodes d'analyses spectroscopiques. Les spectres de résonance magnétique nucléaire du proton (RMN ¹H) et du carbone (RMN ¹³C) ont été enregistrés à température ambiante sur deux appareils spectromètres BRUCKER DRX (400 MHz et 600 MHz).

Les spectres de masse basse résolution ont été enregistrés sur un appareil simple quadropôle (Micromass-Waters ZQ), équipé d'une source d'ionisation électrospray, d'une gamme de masse de 0 à 400 Da.

Les spectres de masse haute résolution (HRMS) sont réalisés sur un spectromètre de masse hybride quadropôle à temps de vol (Micromass-Waters Q-TOF Ultima global), équipé d'une source d'ionisation électrospray et d'une source MALDI.

Les points de fusion ont été mesurés à l'aide d'un banc de KOFLER.

La purification des produits est effectuée par chromatographie flash sur gel de silice (Silica gel 60) poussé par air comprimé au moyen d'un mélange d'éluant cyclohexane / acétate d'éthyle en proportion variable.

Les chromatographies analytiques sur couche mince (CCM) ont été réalisées pour le suivi des réactions. Elles ont été effectuées sur gel de silice sur support aluminium (plaques commerciales Merck DC-Autofolien Kiesegel 60 F254, épaisseur de silice 0,2 mm en phase normale). Les produits sont ensuite révélés selon la méthode de fluorescence dans l'ultraviolet (longueur d'onde 254 nanomètre).

Les solvants et les réactifs utilisés proviennent de chez Acros Organique (France), Sigma Aldrich (France), FluoroChem (USA) et Polychimie (Cote d'Ivoire).

Les tests antibactériens des composés synthétisés ont été évalués contre *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), *Escherichia colis* (*E. colis*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) et *Escherichia faecalis* (*E. faecalis*). La méthode utilisée est la microméthode en milieu liquide réalisé dans une plaque 96 puits[10]. La ciprofloxacine a été utilisé comme molécule référence.

Toutes les analyses spectroscopiques et les tests biologiques sont réalisées au Laboratoire de Glycochimie, des Antimicrobiens et des Agrorésources (LG2A) de l'Université de Picardie Jules Vernes, Amiens (France).

2.2. Méthode de synthèse du 4,5-diphényl-1H-imidazol-2-thiol 1

Méthode 1 : Un mélange de benzoïne (5g ; 23,58 mmol) et de thiourée (7,2g ; 94,34 mmol) est broyé au mortier puis porté à fusion (180°C) pendant 1 heure. Après refroidissement du milieu réactionnel, le produit cristallise. Ce dernier est lavé plusieurs fois à l'eau puis filtré sur fritté, séché à l'air libre et recristallisé dans le diméthylformamide (DMF). Le brut obtenu est filtré à nouveau et lavé au cyclohexane pour donner le composé **1**.

Méthode 2 : A une solution de benzoïne (5g ; 23,58 mmol) dans du diméthylformamide, est ajoutée la thiourée (7,2g ; 94,34 mmol). La solution est portée sous agitation et à reflux pendant 2 heures. Après refroidissement, le produit précipite. Quelques morceaux de glace y sont ajoutés et le précipité est filtré sur Buchner. Les cristaux sont lavés plusieurs fois à l'eau puis séchés à l'air libre. Le brut est recristallisé dans le diméthylformamide (DMF) pour donner le composé **1**.

2.3. Méthode de synthèse des dérivés 2-(benzylthio)-4,5-diphényl-1H-imidazoles 2a-g

A une solution du composé **1** (2 g ; 7,94 mmol) dans l'éthanol absolu (20 mL), est ajouté du bromure de benzyle ou dérivés (1,2 éq). Le mélange est porté à reflux pendant 3 heures. Après refroidissement, le milieu réactionnel est neutralisé avec une solution d'hydrogénocarbonate de sodium (5%). Le mélange est dilué dans l'acétate d'éthyle puis lavé plusieurs fois à l'eau. La phase organique est séchée sur du sulfate de sodium et le solvant est évaporé sous pression réduite au rotarvapor. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 30/70) pour isoler les composés **2a-g** souhaités.

2.4. Méthode de synthèse des 2-(chlorométhyl)-1H-benzimidazoles 3a-e

Les 2-chlorométhylbenzimidazoles sont préparés selon la méthode classique de synthèse des benzimidazoles développée par Phillips[11].

A une solution d'orthophénylènediamine ou dérivés (1g) dans 10 mL d'acide chlorhydrique (4N), sont ajoutés 1,5 équivalents d'acide chloroacétique. Le mélange est chauffé à reflux pendant 15 heures. Après refroidissement, le milieu réactionnel est neutralisé par une solution d'hydrogénocarbonate de sodium (5%). Le mélange est dilué dans l'acétate d'éthyle puis lavé plusieurs fois à l'eau. La phase organique est séchée sur du sulfate de sodium et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 30/70) pour donner les composés **3a-e**.

2.5. Méthode de synthèse des dérivés 2-[(benzimidazolyl)méthylthio]-4,5-diphényl-1H-imidazoles 4a-e

A une solution du composé **1** (1g ; 3,97 mmol) dans 20 mL d'éthanol absolu, est ajouté le 2-chlorométhylbenzimidazole ou dérivés **3a-e** (1.5éq). Le mélange est porté à reflux pendant 3 heures. Après refroidissement, le milieu réactionnel est neutralisé avec une solution d'hydrogénocarbonate de sodium (5%). Le mélange est dilué dans l'acétate d'éthyle puis lavé plusieurs fois avec de l'eau. La phase organique est séchée sur du sulfate de sodium et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 20/80) pour aboutir aux composés **4a-e** attendus.

3. Résultats et discussion

Ce travail de recherche est une contribution à la lutte contre les résistances de certaines bactéries par l'élaboration de dérivés du 2-(benzylthio)-4,5-diphényl-1H-imidazoles et du 2-(benzimidazolylméthylthio)-4,5-diphényl-1H-imidazoles.

3.1. 4,5-diphényl-1H-imidazol-2-thiol 1

Le 4,5-diphényl-1*H*-imidazol-2-thiol **1** est préparé à partir d'une réaction de cyclocondensation entre la benzoïne et la thiourée. Il est obtenu avec un rendement de 51% par la **Méthode 1** et 70% par la **Méthode 2** (**Schéma 1**).

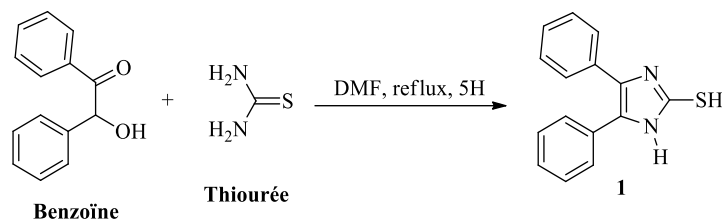


Schéma 1: Synthèse du 4,5-diphényl-1*H*-imidazole **1**

Le composé **1** est caractérisé en RMN ¹H par l'apparition des signaux entre 7,20 et 7,02 ppm correspondant aux protons des noyaux benzéniques. On note également la présence de deux singulets à 12,51 et 3,50 attribuables respectivement aux protons de l'atome d'azote (NH) et du soufre (SH). Les bandes observées à 3145 cm⁻¹ et 1668 cm⁻¹ en infrarouge indiquent la présence des groupes (NH) et C=N.

3.2. Dérivés 2-(benzylthio)-4,5-diphényl-1*H*-imidazoles **2a-g**

Les dérivés 2-(benzylthio)-4,5-diphényl-1*H*-imidazoles **2a-g** sont préparés, à partir d'une réaction de substitution nucléophile (S_N2) entre le 4,5-diphényl-1*H*-imidazol-2-thiol et les bromures de benzyles diversement substitués dans l'éthanol absolu. Les composés **2a-g** sont isolés avec des rendements allant de 71 à 85% (**Schéma 2**).

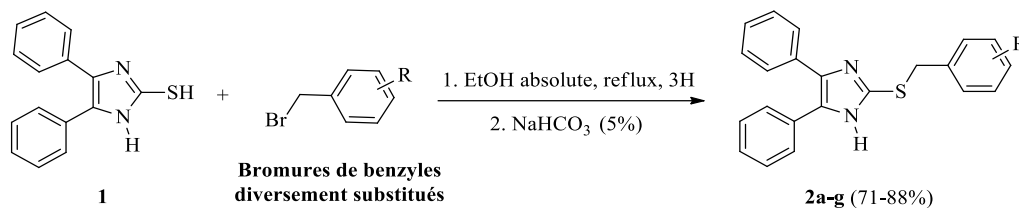


Schéma 2: Synthèse des dérivés 2-(benzylthio)-4,5-diphényl-1*H*-imidazole **2a-g**

Les structures de ces composés ont été confirmées par les méthodes d'analyses spectroscopiques. En effet, on remarque sur l'ensemble des spectres en RMN ¹H des composés **2a-g** la disparition du signal à 3,5 ppm correspondant au proton porté par l'atome de soufre (SH) du composé **1**. On note en revanche l'apparition de pics compris entre 4,33 ppm et 4,60 ppm attribuables aux protons du groupe thiométhyle (SCH₂). Ceci montre bien la substitution sur l'atome de soufre.

De plus, la corrélation HMBC entre les protons des groupes thiométhylènes (SCH₂) et les carbones iminiques (C=N) confirme le couplage des deux entités.

Enfin, les formules brutes des composés **2a-g** sont confirmées par la spectrométrie de masse haute résolution (HMRS).

Les points de fusions et rendements des différents composés **2a-g** synthétisés sont répertoriés dans le tableau ci-dessous (**tableau 1**).

Tableau 7 : Points de fusion et rendements des 2-(benzylthio)-4,5-diphényl-1*H*-imidazole **2a-g**

Produits	R	Point de fusion	Rendements
2a	4-H	186°C	85%
2b	4-NO ₂	168°C	71%
2c	4-CF ₃	182°C	73%
2d	4-Cl	150°C	78%
2e	4-CH ₃	164°C	81%

2f		4-F		160°C	88%
2g		2,4-dichloro		178°C	76%

3.3. 2-(chlorométhyl)-1H-benzimidazoles 3a-e

Les 2-(chlorométhyl)-1H-benzimidazoles **3a-e** sont préparés à partir d'une réaction de cyclocondensation entre l'orthophénylènediamine ou ses dérivés et l'acide 2-chloroacétique. Ils sont isolés avec des rendements variant de 69% à 83% (Schéma 3).

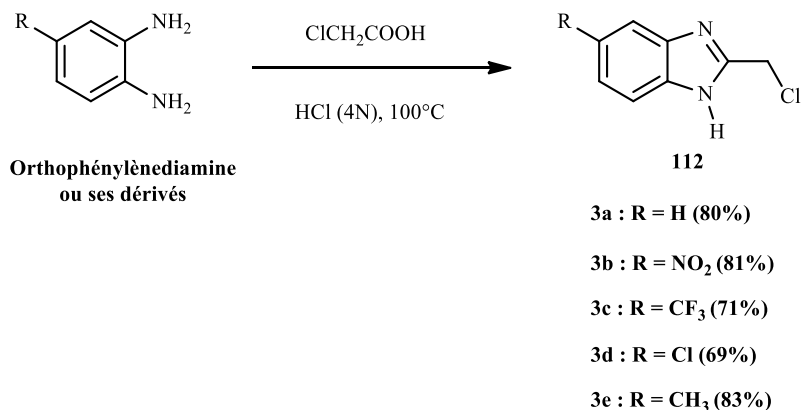


Schéma 3: Synthèse des 2-(chlorométhyl)-1H-benzimidazoles **3a-e**

Les interprétations RMN des composés **3a-e** sont conformes à celles de la littérature [11,12].

3.4. Dérivés 2-[(benzimidazolyl)méthylthio]-4,5-diphényl-1H-imidazoles 4a-e

Les dérivés 2-[(benzimidazolyl)méthylthio]-4,5-diphényl-1H-imidazoles **4a-e** sont obtenus avec des rendements variant de 66 à 78% en utilisant les mêmes conditions de synthèse des composés **2a-g**. (schéma 4).

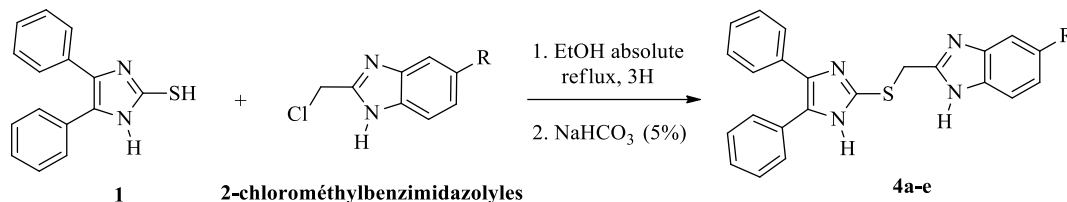


Schéma 4: Synthèse des 2-[(benzimidazolyl)méthylthio]-4,5-diphényl-1H-imidazoles **4a-e**

Les spectres de résonance magnétique nucléaire du proton (RMN ¹H) et du carbone (RMN ¹³C) ainsi que les analyses en spectrométrie de masse haute résolution (HRMS) ont permis de confirmer les structures des composés **4a-e**. Sur l'ensemble des spectres en RMN ¹H des composés **4a-e**, on constate la disparition à 3,5 ppm du pic du proton de l'atome de soufre (SH) du composé **1** et l'apparition d'un nouveau pic entre 4,58 et 4,66 ppm caractérisant les protons du groupe thiométhylène (SCH₂). On remarque également un accroissement des protons aromatiques. Ceci montre bien que la S-substitution a été effectuée.

Aussi, la corrélation HMBC entre les protons des groupes thiométhylènes (SCH₂) et les carbones iminiques (C=N) confirme le couplage des deux entités.

Enfin, les structure du composés **4a-e** sont confirmées par la spectrométrie de masse haute résolution (HMRS). Elle donne des pics correspondant à leur masse moléculaire.

Le tableau 2 répertorie les points de fusion et les rendements des différents composés **4a-e** synthétisés.

Tableau 2 : Points de fusion et rendements des 2-[(benzimidazolyl)méthylthio]-4,5-diphényl-1H-imidazoles 4a-e

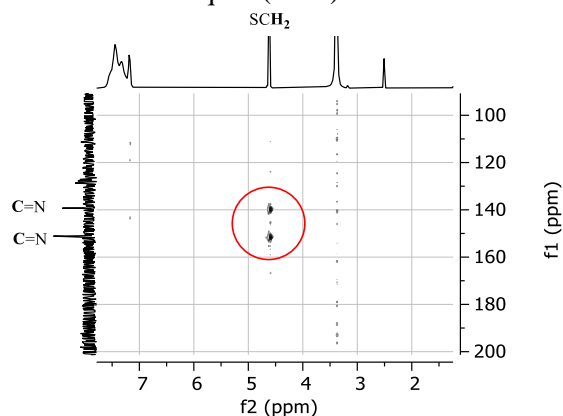
Produits	R	Point de fusion	Rendements
4a	H	252°C	76%
4b	NO ₂	260-266°C	68%
4c	CF ₃	220°C	70%
4d	Cl	248°C	66%
4e	CH ₃	250°C	78%

3.3. Analyse des spectres des composés 4a-e: cas du composé 4a

Sur le spectre RMN ¹H du composé **4a**, on observe la présence d'un singulet d'intégration 2H à 4,62 ppm caractérisant les protons du groupe thiométhylène (SCH₂). Les protons des cycles benzéniques résonnent sous la forme de deux multiplets d'intégration 14H dans les intervalles 7,29-7,47 ppm et 7,16-7,19 ppm tandis que les deux protons des azotes pyrroliques (NH) apparaissent sous la forme de deux singulets à 12,62 ppm et 12,92 ppm.

En RMN ¹³C, on note la présence des carbones des groupes thiométhylène (SCH₂) à 30,57 ppm et ceux des groupes imines (C=N) à 139,30 et 151,13 ppm.

Le couplage des deux noyaux est prouvé par la corrélation en HMBC entre les protons des groupes thiométhylène (SCH₂) et les carbones iminiques (C=N).

**Figure 3 :** Portion du spectre HMBC du composé **4a**

La spectrométrie de masse haute résolution confirme la structure du composé **4a** avec un pic à $m/z = 383,1346$ en accord avec la masse du composé protoné C₂₃H₁₉N₄S [M+H]⁺.

3.3. Évaluation des activités antibactériennes

Dix composés synthétisés ont fait l'objet de tests biologiques sur *P. aeruginosa*; *E. coli*; *S. aureus* et *E. faecalis*.

Les résultats des Concentrations Minimales d'Inhibition (CMI) des composés testés sont consignés dans le .

Tableau 8.

Tableau 8 : Activités antibactériennes des composés 2a-e et 4a-e

Numéros des composés	CMI: Concentration Minimum d'Inhibition (µg/mL)			
	Bactéries à Gram négatif		Bactéries à Gram positif	
	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>
2a	—	—	—	—
2b	—	—	—	—
2c	—	—	—	—
2d	—	—	—	—
2e	—	—	—	—
4a	—	—	—	—
4b	—	—	—	—

4c	–	–	4	–
4d	–	–	16	16
4e	–	–	–	–
Ciprofloxacine	0,25	0,063	8	0,5

- Pas d'activité

L'analyse des résultats des tests biologiques indique qu'aucun des composés testés ne possède une activité antibactérienne sur les souches *P. aeruginosa* et *E. coli*, les bactéries à gram négatif. Cependant, on note la présence d'activité sur les souches *S. aureus* et *E. faecalis* pour les composés **4d** et **4c**. En effet, le composé **4d** (CMI = 16 µg/ml) a montré une activité 2 fois inférieure à celle de la ciprofloxacine (CMI = 4 µg/ml) sur *S. aureus*. Le même composé **4d** (CMI = 16 µg/ml) a présenté une faible activité sur *E. faecalis* comparativement à la ciprofloxacine (CMI = 0,5 µg/ml). Le meilleur résultat est obtenu avec le composé **4c** (CMI = 4 µg/mL) qui a montré une activité 2 fois supérieure à celle de la ciprofloxacine (CMI = 8 µg/mL) sur *S. aureus*.

4. Conclusion

Ce travail réalisé a permis l'obtention de douze composés, dérivés du 4,5-diphényl-1H-imidazoles. Dix composés ont fait l'objet de tests antibactériens sur quatre souches bactériennes pathogènes (*P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus* et *E. faecalis*). Parmi eux, deux ont montré une bonne activité antibactérienne contre *S. aureus* et *E. faecalis*^[13].

En perspective, nous envisageons :

Evaluer les activités des dérivés 2-(benzylthio)-4,5-diphényl-1H-imidazoles et 2-[(benzimidazolyl)méthylthio]-4,5-diphényl-1H-imidazoles sur d'autres germes infectieux notamment sur candida albicans.

Alkyler la position -1 des 2-(benzylthio)-4,5-diphényl-1H-imidazoles.

Remplacer le benzimidazole des dérivés 2-[(benzimidazolyl)méthylthio]-4,5-diphényl-1H-imidazoles par les analogues benzothiazole et benzoxazole.

Evaluer les activités biologiques de ces nouveaux composés.

5. Bibliographie

- [1] T. Peláez, E. Cercenado, L. Alcalá, M. Marín, A. Martín-López, J. Martínez-Alarcón, P. Catalán, M. Sánchez-Somolinos, E. Bouza, *Journal of clinical microbiology* **2008**, *46*, 3028.
- [2] H. Pituch, P. Obuch-Woszczatyński, D. Wultańska, F. Meisel-Mikołajczyk, M. Luczak, *Anaerobe* **2005**, *11*, 197.
- [3] J. BOURGINE, B. LECLERC, P. MONFORT, G. LACOUR, C. CAMINADE, C. VIGNOLLES, A.-B. FAILLOUX, C. PACTEAU, A. LEBLOND, .
- [4] O. mondiale de la Santé, *La résistance aux antimicrobiens dans la Région de la Méditerranée orientale*, **2017**. الم توسط الشرق الأوسط لأمي الأمك تب العالمية، الصحة منظمة
- [5] E. D. Deeks, *Drugs* **2019**, *79*, 215.
- [6] A. ADJOU, A. TOURÉ, A. YAPI, L. OUATTARA, *J. sci* **2010**, *11*, 40.
- [7] M. Ouattara, D. Sissouma, W. Yavo, M. Kone, *Int. J. Bio. Chem. Sci* **2015**, *9*, 1697.
- [8] S. J. Akpa, M. V. Say, R. S. P. Zoakouma, B. Fanté, D. Sissouma, A. Adjou, *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* **2016**, *10*, 670.
- [9] P. T. Manju, A. A. Smith, V. Padmaja, *INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES AND RESEARCH* **2018**, *9*, 3705.
- [10] A. Thabaut, J. L. Durosoir, *Médecine et Maladies Infectieuses* **1979**, *9*, 490.
- [11] B. Mahdavi, M. Rahimizadeh, M. Bakavoli, *JJC* **2013**, *8*, 63.
- [12] S. J. Tangeda, A. B. Sandala, A. Garlapati, *Pharmacophore* **2014**, *5*, 417.
- [13] C. Bamoro, F. Bamba, K. T. D. Steve-Evanes, V. Aurélie, C. Vincent, *Open Journal of Medicinal Chemistry* **2021**, *11*, 17.

Contrôle de la qualité des antipaludiques à base d'artemether-luméfántrine vendus dans les officines

Cisse Mody^{1,3,4}, Keita Ousmane², Sidibe Awa², Sow Fatoumata Tata¹, Adamou Mohamadou², Dembele Ousmane^{1,3}, Cisse Bakary Moussa^{1,3}, Coulibaly Seydou Moussa¹, Wele Mamadou², Sangare Modibo⁵, Koumare Y. Benoît^{1,3}

¹Laboratoire National de la santé de Bamako

²Institut des Sciences Appliquées de l'Université des Sciences Techniques et des Technologies de Bamako. BP E 3206

³Faculté de pharmacie de l'Université des Sciences Techniques et des Technologies de Bamako. BP 1805.

⁴Laboratoire de chimie organique et de substances naturelles, Faculté de Sciences et Techniques de l'Université des Sciences Techniques et des Technologies de Bamako. BP E 3206

⁵faculté de Médecine et d'Odonto –Stomatologie de l'Université des Sciences Techniques et des Technologies de Bamako. BP E 3206

RESUME

Au Mali, le paludisme représente l'une des premières causes de consultation médicale et de mortalité. Ceci pourrait être dû à la résistance des souches plasmodiales et ou à l'inefficacité des antipaludiques utilisés qui sont souvent de mauvaise qualité. L'objectif de notre étude était de contrôler la qualité de l'association d'antipaludique Artémether-Luméfántrine, sous la forme de comprimé, vendue dans les officines de la commune IV du district de Bamako. Il s'agissait d'une étude analytique qualitative et quantitative, réalisée au sein du service de contrôle de qualité des médicaments du Laboratoire National de la Santé de Bamako. Les différentes méthodes d'analyse utilisées ont été les méthodes physico-chimiques telles que les tests d'uniformité de masse; de dureté; de friabilité et la désintégration. Tandis que la colorimétrie ; la CCM et la CLHP ont été utilisées pour l'identification et le dosage des principes actifs des échantillons. L'échantillonnage a concerné 24 échantillons analysés, dont 16 étaient conformes, soit un taux de 66,66% et 8 étaient non conformes soit 33,34%. Les non conformités descellées concernaient uniquement le surdosage. Aucun cas de sous-dosage ou d'absence de principes actifs n'a été obtenu. D'autres études supplémentaires doivent être faites pour apporter plus de lumière sur la qualité des combinaisons d'antipaludiques.

Mots clés : Antipaludiques ; Qualité ; Principe actif.

Abstract :

In Mali, malaria is one of the leading causes of medical consultations and mortality. This could be due to the resistance of plasmodial strains and/or the ineffectiveness of the antimalarials used, which are often of a poor quality. The objective of our study was to control the quality of the association of antimalarial Artemether-Lumefantrine, in the form of tablets, sold in the pharmacies of the commune IV of the district of Bamako. This was a qualitative and quantitative analytical study, carried out within the drug quality control department of the National Health Laboratory of Bamako. The different analytical methods used were physico-chemical methods such as mass uniformity tests; hardness; friability and disintegration. While colorimetry; TLC and HPLC were used for the identification and assay of the active ingredients in the samples. We analyzed 24 samples, of which 16 were compliant, i.e. a rate of 66.66% and 8 were non-compliant, i.e. 33.34%. The unsealed non-conformities only concerned the overdose. We did not find either an underdosing or an absence of active ingredients in a sample. Further studies are needed to shed more light on the quality of antimalarial combinations in Mali.

Keywords: Antimalarials; Quality ; Active ingredient

Introduction

Le paludisme ou malaria est l'infection parasitaire la plus fréquente et aussi l'une des plus dangereuses dans le monde. Il est causé par des parasites du genre *Plasmodium*, transmis à l'Homme par la piqûre de moustiques infectés du genre *Anophèle* appelés vecteurs. Il existe cinq (5) espèces de *Plasmodium* responsables du paludisme chez l'Homme : *Plasmodium falciparum* (la plus dangereuse) ; *Plasmodium vivax* ; *Plasmodium malariae* ; *Plasmodium ovale* et *Plasmodium knowlesi*. Au niveau mondial, le nombre de cas de paludisme est estimé à 228 millions en 2018 avec 405 milles décès, contre 312 millions en 2017 avec 416 000 cas de mortalité [1]. A elle seule, la région Afrique de l'OMS a enregistré 94% des décès liés au paludisme dans le monde en 2018 [1]. En 2000, l'OMS a estimé les pertes économiques, dues au paludisme, de l'Afrique à 12 milliards de dollars US. Ce qui met cette maladie au rang des fléaux qui freinent le développement du continent [1]. Au Mali, le nombre de cas confirmés en 2018 s'élève à plus de 2 millions 700 mille personnes avec 1778 décès. Il est responsable de 13% de mortalité

et représente la première cause de décès des enfants de moins de 5 ans et la première cause d'anémie chez les femmes enceintes [2].

Les principales mesures de lutte contre le paludisme prévoient : l'utilisation de moustiquaires imprégnées d'insecticide, la pulvérisation des maisons d'insecticide à effet durable et le traitement des cas confirmés par des médicaments antipaludiques efficaces [3]. Un antipaludique est une préparation pharmaceutique permettant de détruire le *plasmodium* ou de bloquer sa croissance afin de prévenir ou guérir le paludisme. Dans plusieurs régions du monde, les parasites sont devenus résistants aux médicaments antipaludiques. C'est pour cette raison que l'OMS recommande l'utilisation des CTA, qui sont des antipaludiques qui combinent à eux seuls, 2 groupes de principes actifs qui agissent différemment de manière synergique [2]. Depuis 2013, l'OMS a reçu 1500 signalements de cas de produits de qualité inférieure ou falsifiés. Parmi ceux-ci, les antipaludiques et les antibiotiques sont les plus fréquemment cités [3]. Notre étude avait pour objectif de Contrôler la qualité des médicaments antipaludiques à base d'Artémether-Luméfantine, sous forme de comprimé, vendus dans les officines en commune IV du district de Bamako. En plus, d'un constat réel, certains malades se plaignent des antipaludiques (spécialités) vendus dans les officines. Ils affirment que la maladie persiste après le traitement à travers les signes cliniques. Tout ceci démontre que les patients prennent probablement des médicaments inefficaces qui ne peuvent ni traiter ni prévenir la maladie. Ce qui constitue non seulement un gaspillage d'argent mais représente également un grave danger pour la santé de ces populations. C'est pour ces raisons, que nous avons initié cette étude qui est basée sur le contrôle de qualité des médicaments antipaludiques, à base d'Artémether-Luméfantine, vendus dans les officines en commune IV du district de Bamako.

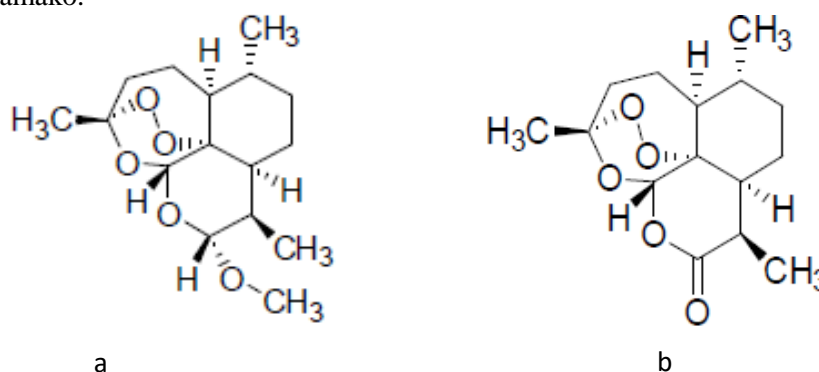


Figure 1: Structure chimique de l' Artémether(a) et l' Artémisinine (b) [4,5] (Mariette, Régine SALERY)

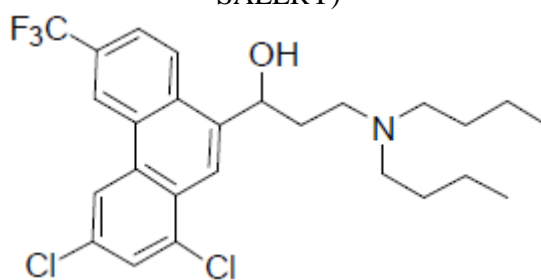


Figure 2 : Structure chimique de Luméfantine [5]

Matériel et méthodes

Période et cadre de l'étude

Il s'agissait d'une étude analytique qualitative et quantitative qui a été réalisée au sein du Service de Contrôle de Qualité des Médicaments(SCQM) du Laboratoire National de la Santé (LNS) du Mali à Bamako. L'étude s'est déroulée de Juin à Septembre 2020.

Réactifs et solvants

- Acétate d'Ethyle, Acide Acétique Anhydre, Acide Chloridrique ; Ethanol ; Iode ; Iodure de Potassium ; Méthanol ; Combiart-DT (standard ART et LUM) ; Toluène

Appareils

- Désagrégateur Agilent technologies ; Duromètre Erweka ; Friabilimètre Erweka CLHP Agilent technologies, plaque de CCM

Echantillonnage

Les échantillons analysés provenaient de 2 grandes pharmacies situées en commune IV du district de Bamako. Ils étaient au nombre de six (6) lots de quatre (4) antipaludiques à base d'Artemether 80 mg combiné à de la Luméfantrine 480 mg. Des comprimés destinés à la voie orale chez les adultes. Après échantillonnage, les médicaments ont été analysés au laboratoire par les techniques de dosage reconnues par les Pharmacopées américaine et européenne ainsi que les Monographies internes en vigueur.

Méthodes

Examen visuel

Étiquetage : Sur le conditionnement, nous avons vérifié que les informations suivantes figuraient sur les emballages secondaires des médicaments : nom du produit, nom des principes actifs (PA), la quantité des PA contenus dans un comprimé, numéro de lot attribué par le fabricant, date de fabrication et de péremption du produit, nom et adresse du fabricant, les instructions sur la conservation et le stockage du produit[5 ;6].

Apparence Physique et caractères organoleptiques : consiste à déterminer l'aspect, la couleur, l'odeur, la forme, la surface et l'épaisseur des comprimés. La figure 3 illustre les 2 emballages et les comprimés.



Figure3: Examen visuel des emballages et des comprimés

Uniformité de masse : Nous avons pesé individuellement 20 unités de comprimés à l'aide d'une micro balance RADWAG. Puis la moyenne, l'écart-type et le Coefficient de Variation (CV) ont été calculés.

$$CV = \frac{\text{Ecart-type}}{\text{Moyenne}} * 100$$

Test de friabilité : Dix (10) comprimés ont été prélevés, dépoussiérés puis pesés à l'aide d'une coupelle de pesée. Ils ont été mis dans le tambour de l'appareil de friabilité qui a effectué des mouvements de rotation pendant 4 minutes à raison de 25 tours/minute. Les comprimés ont été repesés à la fin et la perte massique en pourcentage a été calculée selon la formule suivante :

$$\%M = \frac{(M1 - M2)}{M1} * 100$$

Légende : %M : perte massique ;
M1 : masse des comprimés avant le test ;
M2 : masse des comprimés après le test.

Test de dureté : Le diamètre de trois (3) comprimés prélevés au hasard ont été déterminés à l'aide d'une règle graduée puis ils ont été mis de façon individuelle dans le Duromètre ERWEKA qui a exercé une pression sur eux afin de les casser. La force exercée s'affiche alors sur l'écran de l'appareil.

Test de désagrégation : Le bain-marie de l'appareil à désagrégation a été mis à chauffer. Dans chaque bûcher de 1L, nous avons mis 700 mL d'eau distillée. Les bûchers ont été mis dans le bain-marie et la

température y a été vérifiée fréquemment à l'aide d'un thermomètre jusqu'à obtention de $37^{\circ}\text{C} \pm 2$. Les médicaments ont ensuite été introduits dans chacun des 6 tubes du panier de désagrégation qui ont été placés sur le bras de l'appareil. Un chronomètre a été déclenché après avoir mis le moteur en marche assurant le mouvement vertical du panier en route [6].

Test colorimétrique pour l'Artémether : Une quantité de poudre de l'échantillon contenant 80 mg d'Artémether a été introduite dans une erlenmeyer où 40 mL d'éthanol absolu y ont été ajoutés. Le mélange a été agité puis filtré. La moitié du filtrat a ensuite été évaporée jusqu'à environ 1 mL dans lequel 0,1 g d'iodure de potassium a été mis. Le tout chauffé jusqu'à l'obtention d'une coloration jaune [6]

Chromatographie sur Couche Mince (CCM) : Pour réaliser cette analyse, nous avons employé la méthode décrite dans le document de l'USAID/USP promoting the quality of medicines [7].

Cas de l'Artémether : Préparation de la solution témoin du stock : un comprimé entier de Combiart-DT (étalon de référence) qui contient 20 mg d'artémether combiné à 120 mg de luméfántrine a été trituré puis dilué avec 9 mL de méthanol et 1 mL d'acide acétique anhydride dans une fiole de 25 mL. Les flacons ont été fermés puis agités pendant 3 minutes jusqu'à dissolution d'une grande partie des solides. En plus de la luméfántrine, cette solution contient 2 mg/mL d'artémether total et a été étiquetée en tant que « Solution Témoin du Stock d'artémether ».

Préparation de la solution témoin d'usage 100% (limite supérieure) : Pas de dilution supplémentaire de la solution témoin du stock car elle constitue déjà la concentration de travail final de 2 mg/mL d'artémether total et a été étiquetée « Solution Témoin d'Usage d'artémether 100% ».

Cette solution constitue un médicament de bonne qualité contenant 100% d'artémether [7].

□ **Préparation de la solution témoin d'usage 80% (limite inférieure) :** nous avons introduit 4 mL de la solution témoin du stock dans une fiole de 10 mL puis 1 mL de méthanol a été ajouté. Cette solution avait une concentration finale de 1,6 mg/mL d'artémether total qui constitue un produit de moindre qualité contenant seulement 80% de la quantité d'artémether comme l'indique l'étiquette du médicament. C'est la limite la plus basse acceptable pour tout produit pharmaceutique approprié [7].

□ **Préparation de la solution essai du stock :** Une quantité de poudre contenant 20 mg d'artémether a été calculée et pesée puis introduite dans un flacon de verre de laboratoire. Nous y avons ajouté 5 mL de méthanol et 0,55 mL d'acide acétique anhydre. Le flacon a été fermé et agité pendant 3 mn environ. La solution a ensuite été laissée au repos pendant 5 mn pour que les résidus non dissous se déposent au fond.

□ **Préparation de la solution essai d'usage :** nous avons introduit 2,5 mL de la solution essai du stock dans une fiole de 10 où 2 mL de méthanol y ont été ajoutés et agités.

Cette solution renferme 2 mg/mL d'artémether total comme celle de la solution témoin d'usage supérieure.

Solvant de migration : 18 mL de toluène, 4 mL d'acétate d'éthyle et 2 mL d'acide acétique anhydre ont été introduits dans une cuve chromatographique. Les parois de la cuve ont été bordées avec du papier filtre puis elle a été fermée pendant au moins 15 minutes avant utilisation pour permettre sa saturation par les vapeurs de solvant. Les plaques CCM ont ensuite été déposées dans la cuve qui a été fermée. L'élution de la phase mobile a été observée jusqu'aux $\frac{3}{4}$ de la plaque CCM qui a été retirée par la suite. La ligne de front du solvant a été marquée au crayon et la plaque a été chauffée afin d'évaporer le solvant [7].

□ **Révélation des tâches :** Les tâches d'artémether ne sont pas immédiatement observables après la migration donc nécessitent un révélateur qui est l'acide sulfurique. Pour cela, les plaques CCM ont été immergées dans une solution de révélation constituée de 190 mL de méthanol et 10 ml d'acide sulfurique concentré. Elles ont ensuite été séchées sur une plaque chauffante où les tâches d'artémether sont apparues progressivement à la lumière du jour.

Cas de Luméfántrine

□ **Préparation de la solution témoin du stock :** un comprimé entier de Combiart-DT (étalon de référence) qui contient 20 mg d'artémether combiné à 120 mg de luméfántrine a été triturés puis dilués avec 45 mL de méthanol et de 5 mL d'acide acétique anhydre dans une fiole de 100 mL. Les flacons ont été fermés puis agités pendant 3 minutes jusqu'à dissolution d'une grande partie des solides. En plus de l'artémether, cette solution contient 2,4 mg/mL de luméfántrine total et a été étiquetée en tant que « Solution Témoin du Stock de luméfántrine ».

□ **Préparation de la solution témoin d'usage 100% (limite supérieure) :** 1 mL de la solution témoin du stock et 2 mL de méthanol ont été introduits dans une fiole de 10 mL. La fiole a été fermée et agitée. Cette solution contient 0,8 mg/mL de luméfantine totale et a été étiquetée « Solution Témoin d'Usage de Luméfantine 100% ». Cette solution constitue un médicament de bonne qualité contenant 100% de Luméfantine.

□ **Préparation de la solution d'usage 80% (limite inférieure) :** 4 mL de la solution témoin du stock et 11 mL de méthanol ont été introduits dans une fiole de 25 mL. La fiole a été fermée et agitée. Cette solution contient 0,64 mg/mL de Luméfantine totale qui constitue un produit de moindre qualité contenant seulement 80% de la quantité de Luméfantine comme l'indique l'étiquette du médicament et a été étiquetée « Solution Témoin d'Usage de Luméfantine 80% ». C'est la limite la plus basse acceptable pour tout produit pharmaceutique approprié [7].

□ **Préparation de la solution essai du stock :** Une quantité de poudre contenant 120 mg de luméfantine a été calculée et pesée puis introduite dans un flacon de verre de laboratoire. Nous avons versé 5 mL de méthanol et 0,55 mL d'acide acétique anhydre dans ce flacon. Le flacon a été fermé et agité pendant trois minutes environ. La solution a ensuite été laissée pendant cinq minutes pour que les résidus non dissous se déposent au fond [7].

□ **Préparation de la solution essai d'usage :** 1 mL de la solution essai du stock a été introduit dans une fiole puis 23,5 mL de méthanol et 2,5 mL d'acide acétique anhydre y ont été ajoutés. La fiole a été fermée, agitée et étiquetée en tant que « Solution Essai d'Usage de Luméfantine ». L'uniformité des dépôts a été vérifiée sous une lampe UV de 254 nm.

Migration : 18 mL d'acétate d'éthyle, 4 mL de méthanol et 2 mL d'acide acétique anhydre ont été introduits dans une cuve chromatographique. Les parois de la cuve ont été bordées avec du papier filtre puis elle a été fermée pendant au moins 15 minutes avant utilisation pour permettre sa saturation par les vapeurs de solvant. Les plaques CCM ont ensuite été déposées dans la cuve qui a été fermée. L'éluion de la phase mobile a été observée jusqu'aux $\frac{3}{4}$ de la plaque CCM qui a été retirée par la suite. La ligne de front du solvant a été marquée au crayon et tout le résidu de solvant a été évaporé avec une plaque chauffante.

□ **Révélation des tâches :** tous les résidus de solvant ont été séchés et les tâches ont été observées sous la lampe UV de 254 nm.

Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP)

□ Conditions instrumentales et analytiques : l'analyse a été réalisée avec un système CLHP AGILENT 1260 (voir figure 11) dans les conditions suivantes :

- Phase stationnaire : colonne C18 (250 x 4.5 mm x 5 μ m) ;
- Phase mobile : méthanol et un tampon d'orthophosphate de dihydrogène de potassium (4.1g/L) dans un rapport (50:50). Le mélange a été filtré et dégazé ;
- Débit de la pompe : 1.0 mL/minute ;
- Détecteur : la détection UV a été effectuée à 273 nm ;
- Injection : le volume d'injection était de 20 μ L.

□ Préparation de la solution échantillon : une quantité de poudre de l'échantillon contenant 20 mg d'artémether (qui correspond à 120 mg de luméfantine) a été pesée puis introduite dans une fiole jaugée de 100 mL. Nous avons ajouté 85 mL de méthanol puis la solution a été soniquée pendant 20 minutes. Après avoir refroidie à la température ambiante, elle a été filtrée à travers un filtre de 0,45 μ m. Ensuite nous sommes passés à la lecture

□ Préparation de la solution standard : la solution standard a été préparée dans les mêmes conditions analytiques que l'échantillon [7].

Résultats et discussion

Examen visuel

Le résultat de l'examen visuel des emballages et des comprimés est enregistré dans le tableau II.

Tableau II : Résultat de l'examen visuel des échantillons.

échantillon	Nombre de lot	Couleurs et aspect	Informations sur l'emballage	conformes		
Artéfan ^f	6 lots/ spécialité	Comprimé jaune mono sécable sans enrobage	Nom du produit	oui		
Coartem ^f			Nom et adresse du fabricant	oui		
			Nom et dosage du PA	oui		
			Conservation et manutention	oui		
Laritem ^f			Information lisibles sur l'emballage	oui		
			Date péremption	oui		
			Date fabrication	oui		
					Numéro de lot	oui

Les échantillons étaient au nombre de 6 lots constitués de trois spécialités différentes : ARTEFAN®, COARTEM® et LARITEM®. Ils étaient tous des comprimés jaunes, mono sécables, sans enrobage et de forme oblongue. L'examen visuel n'a montré aucune anomalie d'emballage et d'étiquetage des échantillons. Toutes les informations nécessaires figuraient sur les 2 emballages. Les emballages primaires étaient convenablement scellés, hermétiques et exempts de toute trace d'humidité. Nos résultats diffèrent de ceux de Nnanga *et al.*, en 2015 à Yaoundé, qui avait obtenu 9 lots sur 30 ne possédant pas d'emballage secondaire et 3 lots dont les comprimés n'avaient pas de couleur uniforme.

Uniformité de masse et test de désagrégation

Les résultats relatifs aux tests d'uniformité de masse et de désagrégation sont dans le tableau III.

Tableau III : Résultat de l'uniformité de masse et du test de désagrégation

N° de lot	Poids Moyen (g)	Ecart-type	Coefficient de Variation	Temps de désagrégation	Norme de désagrégation selon la P.E
20-01	0,9687	0,00692965	0,7%	42''	≤ 15''
20-02	0,98535	0,00205061	0,2%	09'16''	
20-03	0,979665	0,00940452	0,95%	03'44''	
20-04	0,67295	0,00561031	0,58%	17''	
20-05	0,96416	0,00674912	0,7%	03'07''	
20-06	0,988	0,007904	0,8%	07'23''	

' : Seconde ; '' : Minute

D'après la Pharmacopée Européenne (P.E), lorsque le Poids Moyen > 250 mg, le Coefficient de Variation (CV) ne doit pas excéder 5%.

Le tableau III montre que le lot 20-03 avait le CV le plus élevé mais tous les échantillons répondaient à la norme avec moins de 1%. Et le lot 20-02 a le temps de désagrégation le plus long avec 9 min 16 sec. Cependant, tous les échantillons testés sont conformes avec un temps de désagrégation n'excédant pas 15 minutes à 37°C ± 2. Nos résultats sont similaires à ceux de Kouonang K.S., 2005[8], qui n'avait obtenu aucun cas de non-conformité à ce test sur 27 échantillons d'Artémether analysés au Laboratoire National de la Santé.

Test de friabilité

Ce test tient compte de la perte poids des lots de comprimés

Tableau IV : Représente la perte massique des comprimés après le test de friabilité

N° de lot	M1 (g)	M2 (g)	%M
20-01	9,90149	9,88937	0,1%
20-02	10,05858	10,04033	0,2%
20-03	9,87422	9,86950	0,05%
20-04	9,80776	9,80247	0,05%
20-05	9,78617	9,77486	0,1%
20-06	9,96916	9,94274	0,3%

- . **M1** : masse des comprimés avant le test ;
- M2** : masse des comprimés après le test ;
- %M** : perte massique des comprimés en pourcentage

Selon la Pharmacopée Internationale, La perte en masse maximale considérée comme acceptable est de 1%. L'observation du tableau IV nous montre que tous les échantillons se situent dans cette norme. Aucun cas de non-conformité n'a été enregistré avec le test de friabilité. Nos résultats diffèrent de ceux de Nnanga et *al.*, en 2015 à Yaoundé, qui ont obtenu 3 lots (10%) non conformes à ce test.

Test de dureté

Les résultats du test de dureté sont enregistrés dans le tableau V.

Tableau V: Résultat du test de dureté des différents de lots

N° de lot	Moyenne force exercée	Force minimale	Force maximale
20-01	169 N	161 N	181 N
20-02	464 N	432 N	489 N
20-03	214,66 N	207 N	221 N
20-04	151,66 N	122 N	176 N
20-05	180,66 N	176 N	189 N
20-06	435 N	389 N	487 N

N : newton.

L'analyse du tableau V démontre que la plus grande pression de cassure a été exercée sur les comprimés du lot 20-02 et la plus petite pression, sur les comprimés du lot 20-04. Lors du test de dureté, nous n'avons obtenu aucun cas de non-conformité. Notre résultat est différent de celui de Nnanga et *al.*, te 2015 à Yaoundé, qui ont obtenu 06 lots (19,67%) qui présentaient une non-conformité à ce test

Test colorimétrique (Artémether)

Tous les échantillons étaient conformes au test colorimétrique. Ils ont tous viré au jaune avec ajout du réactif iodure dans les solutions préparées. Ceci démontre que tous les échantillons contiennent le principe actif artémether. Notre résultat diffère de celui de Mbadinga C.G., 2004 [9] qui avait obtenu 1 échantillon (5,3%) sur 19 qui ne possédait pas de principe actif.

Chromatographie sur Couche Mince

Le tableau VI donne les valeurs du Rf pour chaque lot analysé

Tableau VI: Résultat du test des CCM.

N° de lot	Rf standards		Rf échantillons		%Rf	
	Artémether	Luméfantrine	Artémether	Luméfantrine	Artémether	Luméfantrine
20-01	0.6	0.66	0.6	0.66	0	0
20-02	0.6	0.05	0.6	0.05	0	0
20-03	0.6	0.75	0.6	0.75	0	0
20-04	0.6	0.7	0.6	0.7	0	0
20-05	0.6	0.75	0.6	0.77	0	2.66
20-06	0.6	0.8	0.6	0.8	0	0

Selon la Pharmacopée Américaine, le %Rf ne doit pas excéder 5%.

L'observation du tableau VI démontre que tous les lots ont un Rf de 0%, excepté le lot 20-05 qui a un Rf égal à 2,66%. Tous les échantillons analysés ont donc répondu à la norme.

Cela signifie que les échantillons contiennent les principes actifs artémether et luméfantrine. Aucun cas d'absence de principes actifs n'a été enregistré. Notre résultat est similaire à celui de KPAIBE et *al.*, en 2016 à Abidjan mais diffère de celui de Sidibé O. I., 2011 qui avait obtenu 57 cas (7,04%) d'absence de principe actif sur 810 échantillons analysés en 2011 au Laboratoire National de la Santé à Bamako [10].

Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP)

Le tableau VII représente la moyenne des Temps de Rétention (RT) du standard et des échantillons et la figure 11, les chromatogrammes du standard et des échantillons du lot 20-01.

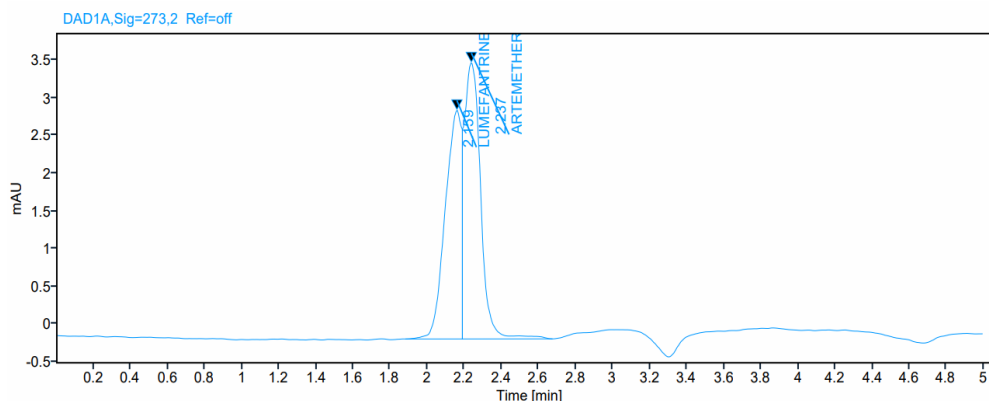


Tableau IX: Temps de Rétention du standard et des échantillons.

RT Artémether						
Standard	Lot 20-01	Lot 20-02	Lot 20-03	Lot 20-04	Lot 20-05	Lot 20-06
2,2304 min	2,238 min	2,2375 min	2,2385 min	2,238 min	2,2395 min	2,2395 min
RT Luméfantrine						
Standard	Lot 20-01	Lot 20-02	Lot 20-03	Lot 20-04	Lot 20-05	Lot 20-06
2,1558 min	2,1615 min	2,1625 min	2,163 min	2,158 min	2,16 min	2,1595 min

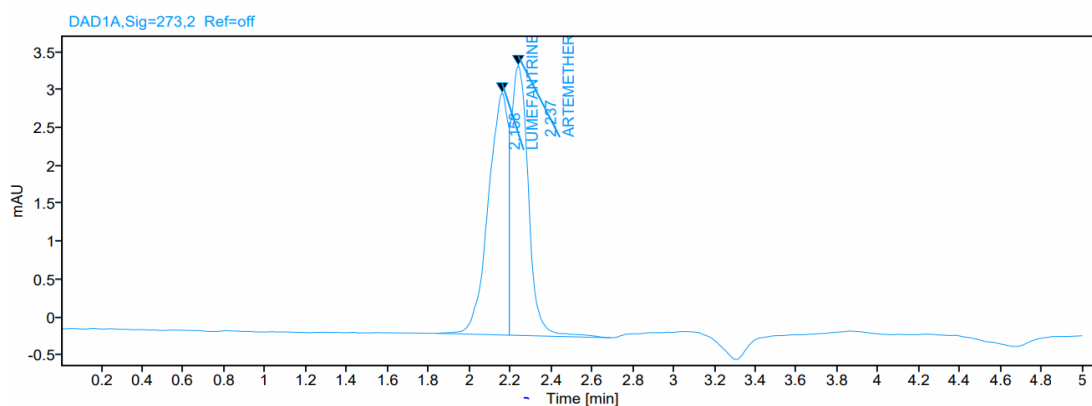


Figure 4 : Chromatogramme du standard et d'un échantillon

L'analyse du tableau VII montre que le temps de rétention des échantillons et celui du standard sont sensiblement les mêmes. Le chromatogramme montre que les pics de l'artémether du standard et de l'échantillon sont apparus au même temps, soit à 2,237 minutes. Les pics de la luméfantrine du standard et de l'échantillon sont apparus à des temps sensiblement égaux, soit respectivement, à 2,159 min et 2,156 min. Les pics des échantillons sont similaires à ceux du standard. On en déduit que les échantillons contiennent les principes actifs Artémether-Luméfantrine.

• **Teneur des échantillons en Artémether-Luméfantrine**

D'après la monographie de la Pharmacopée Américaine, les médicaments ne contiennent pas moins de 90,0% et pas plus de 110,0% des quantités d'Artémether et Luméfantrine indiquées sur l'étiquette. Donc, la teneur en principe actif (en mg) selon le dosage est comprise entre :

- ART (80mg) = [72mg, 88mg] ;
- LUM (480mg) = [432mg, 528mg]

Le tableau VIII illustre la teneur en Artémether et Luméfantrine des échantillons.

Tableau X : Teneur en Artémether et Luméfantrine des échantillons.

N° de lot	Teneur en %		Teneur en mg	
	Artémether	Luméfantrine	Artémether	Luméfantrine
20-01	112,4%	96,75%	89,9	464,4
20-02	109,9%	109,7%	87,9	526,6
20-03	107,2%	115,3%	85,7	553,6
20-04	107,6%	97,4%	86,1	467,6
20-05	104,9%	106,3%	83,9	510,0
20-06	109,6%	104,7%	87,7	502,8

Parmi les 6 lots analysés, nous avons obtenu 2 lots avec une teneur en Artémether et Luméfantrine légèrement supérieure à la norme. Le lot 20-01 contient une quantité d'Artémether supérieure à la norme et le lot 20-03, une quantité de Luméfantrine supérieure à la norme. Notre résultat est différent de celui obtenu par KOUMARE et *al.* en 2015[11], qui a enregistré 1 cas d'échantillon surdosé sur 303 et de CISSE en 2011[12], qui a également obtenu 1 cas d'échantillon surdosé.

Conclusion

Notre étude avait pour objectif de contribuer, par identification et dosage, au contrôle de la qualité d'une association d'antipaludique : Artémether–Luméfantrine 80/480 Cp vendus dans les officines en commune IV du district de Bamako. Malgré quelques difficultés rencontrées sur le plan technique, nous avons obtenu des résultats. L'étude a révélé quelques cas de surdosage. Le surdosage d'un médicament peut entraîner des accidents graves lors de l'administration, conduisant à d'éventuels effets toxiques dangereux. Aucun cas d'absence ou de sous dosage de principes actifs n'a été obtenu. Le sous-dosage des antipaludiques entraîne l'échec du traitement et la résistance des souches plasmodiales.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] OMS, 2019, Rapport sur le paludisme dans le monde 2019, Page 5 sur 14.
- [2] <https://www.studiotamani.org/index.php/themes/societe/19768-paludisme-au-mali-des-avancees-enregistrees-dans-la-lutte-contre-la-maladie>, consulté le 18 Août 2020.
- [3] <https://www.who.int/fr/news/item/28-11-2017-1-in-10-medical-products-in-developing-countries-is-substandard-or-falsified>, consulté le 10 Juillet 2020.
- [4] Mariette R. S., 2007, activité antipaludique de la girolle étudiée in vitro et in vivo, THESE : 03 – TOU 3 – 4086... Ecole Nationale de Vétérinaire de Toulouse
- [5] KPAIBE A.S. *et al.*, 2016, Stabilité des suspensions reconstituées de la combinaison thérapeutique antipaludique à base d'artémether-luméfantrine avec différents types d'eaux, *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 10(2): 894-903, Avril 2016
- [6] Nnanga N., Eboumbou M. E. C, Ngene J. P, Ewoudou M. E. R, Mpondo Mpondo E, 2015, Evaluation Pharmacotechnique des comprimés d'Artémether-Luméfantrine à Yaoundé, Vol 16
- [7] USAID/USP promoting the quality of medicines, 2014, Tests de bases et procédure d'échantillonnage pour le programme de surveillance de la qualité des antipaludiques, Bamako.
- [8] Kouonang K.S., 2005, Contrôle de qualité des trois antipaludiques dérivés de l'Artémisinine : Artemether, Artesunate, Dihydroartémisinine, FMPOS/ Université de Bamako.
- [9] O I Sidibé O. I., 2011, Contrôle qualité des antipaludiques dans sept (7) régions administratives du Mali par chromatographie sur couche mince (CCM) : opérationnalisation des kits minilabs, FMPOS/ Université de Bamako, thèse pharmacie, 122p.
- [10] Mbadinga Mbadinga C.G., 2004, Contrôle de qualité de l'amodiaquine et de la quinine, FMPOS/ Université de Bamako.
- [11] Koumare B. Y, Cissé H. H, Koné A. Z., Sacko M., Garango Y. D, Tangara D. J., Dembélé D., 2015, Contrôle de qualité des médicaments antipaludiques au Mali, Bamako, tome 6, vol 18.
- [12] Cissé H. H., 2011, Contrôle de qualité des antipaludiques reçus au LNS, de janvier à décembre 2009, FMPOS/ Université de Bamako.

La valorisation agricole des coques de cacao et des feuilles de moringa

YAO Koffi aimé,¹ AKMEL Djedjro Clément,² ASSIDJO Nogbou Emmanuel³

¹Laboratoire des Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles (LAPISEN), INP-HB ; Côte d'Ivoire

²Laboratoire d'Analyse de Sols et Végétaux, (LAVESO), INP-HB; Côte d'Ivoire
koffiimyao@gmail.com

Résumé

Les sols constituent une ressource essentielle pour l'agriculture et l'humanité FAO,2018 pour pallier leurs faibles potentialités, les engrais chimiques sont utilisés. Cependant leurs coûts restent élevés pour les paysans, et de plus ceux-ci participent à la pollution. L'objectif de cette étude est de contribuer à la restauration des sols par le recours aux bio fertilisants. Ainsi cinq formulations ont été constituées à base de broyat de coque de cacao et des feuilles de moringa (T1, T2, T3, T4, T5) puis appliquées sur les parcelles expérimentales. Pendant la phase végétative les sols sont analysés. Les résultats d'analyses indiquent une augmentation en matière organique des sols par rapport au témoin. Dans le but d'évaluer leur impact sur la fertilité des sols, des parcelles expérimentales ont été réalisées. Le facteur fertilisation du dispositif utilisé au champ comprenait quatre niveaux D0 : le témoin sans fertilisant, D1=1kg/m² de bio fertilisant et D2 équivaut 1/2kg/m² de D3 avec D3= 4kg/m². Les résultats d'analyses de sol comparativement au témoin ont révélé une amélioration des paramètres physico-chimiques. Les meilleurs rendements sont imputés aux traitements T1 et T3. Aux vues de ces résultats appréciables nous souhaitons faire la diffusion de cette technique.

Mots clés : Bio fertilisant, fertilité des sols, formulation.

The agricultural valorization of cocoa shells and moringa leaves

Abstract

Soils are an essential resource for agriculture and humanity FAO,2018. To overcome their low potential, chemical fertilizers are used. However, their costs remain high for farmers, and moreover they contribute to pollution. The objective of this study is to contribute to soil restoration through the use of bio-fertilizers. Thus, five formulations were made up based on shredded cocoa shell and moringa leaves (T1, T2, T3, T4, T5) then applied to the experimental plots. During the vegetative phase the soils are analyzed. The analysis results indicate an increase in soil organic matter compared to the control. In order to assess their impact on soil fertility, experimental plots were carried out. The fertilization factor of the device used in the field included four D0 levels: the control without fertilizer, D1=1kg/m² of bio-fertilizer and D2 is equivalent to 1/2kg/m² of D3 with D3= 4kg/m². The results of soil analyze compared to the control revealed an improvement in the physico-chemical parameters. The best yields are attributed to treatments T1 and T3. In view of these appreciable results, we wish to disseminate this technique.

Keywords: Bio-fertilizer, soil fertility, formulation.

1. INTRODUCTION

La Côte d'Ivoire, dès son accession à l'indépendance, grâce à la disponibilité d'une importante réserve forestière, a fondé l'économie de son pays sur l'agriculture. Le secteur agricole représente 22% du PIB de la Côte d'Ivoire, plus de 50 % des recettes d'exportation et les deux tiers des sources d'emploi et de revenu de la population [1]. Elle est un pays essentiellement rural. Les superficies mises en culture représentent 53% du territoire [2]. Cependant l'accroissement galopant de la population, la déforestation à large échelle, l'agriculture sur abattis, brulis, l'élevage extensif et les changements climatiques de nos jours causent des dégradations rapides de teneur en minéraux des sols et se révèlent fragiles dans leur ensemble. Nous assistons à une chute de la fertilité des sols reconnue comme l'une des contraintes biophysiques majeurs limitant la production agricole, en particulier les déficits en azote [3]. Or les sols constituent une ressource essentielle pour l'agriculture et l'humanité [4]. Pour pallier aux faibles potentialités des sols, les engrais chimiques sont utilisés pour accroître la productivité. Fort est de constater que ces engrais, en plus de leur coût élevé pour les paysans, participent à la pollution de l'environnement (eaux de surface, souterraine et sols) [5,6]. Ainsi le recours aux bio fertilisants, devraient permettre d'optimiser les processus biologiques du sol et physiologiques des plantes pour renforcer leur qualité gustative, nutritive. Plus de 95% de nos aliments sont produits directement ou indirectement sur nos sols. Il existerait donc une corrélation directe entre la qualité des sols et la qualité et la quantité d'aliments. On ne peut produire des aliments nutritifs et de bonne qualité qu'avec des sols fertiles et en bonne santé. Autrement dit, bien nourrir les plantes pour mieux nourrir les Hommes, [7]. Par ailleurs les bio fertilisants sont des bio stimulants microbien améliorant l'efficacité de la nutrition des plantes [8]. Ces produits, ont une double valeur agronomique entant que bio fertilisant azotées,

phosphorées et potassique et aussi comme amendement organique et basique [9]. La fertilisation organique apparaît nécessaire pour une agriculture durable et une éco-conservation de l'environnement. La côte d'ivoire premier producteur mondial de cacao dispose d'une énorme source de carbone de phosphore et de potassium à savoir les coques de cacao pour rendre fertile ces sols agricoles. Cependant leur décomposition reste lente car ils sont constitués d'un complexe rigide en protéine et lignine [10.11]

De ce fait, des formulations à base de broyats de coques de cacao et des feuilles de Moringa riches en azote et activateurs de croissance par des substances actives la Zeatine une hormone végétale du groupe des Cytokinines ont été constituées.[12]

L'objectif principal de cette étude est de contribuer à la valorisation des sous-produits agricoles et à la restauration des sols agricoles par le recours aux biofertilisants à base de coque de Cacao et des feuilles de Moringa.

Pour atteindre ces objectifs, il s'agit spécifiquement de :

Faciliter la décomposition des coques de cacao associés aux feuilles de moringa,

Restaurer le niveau de la fertilité,

Immobilisation importante des nutriments pour une bonne qualité gustative et nutritive de l'aubergine.

Cette étude s'articule autour de trois points d'encrages. Le premier point présentera le matériel et méthodes. Le deuxième point traitera le résultats et discussion. Nous terminerons par une conclusion.

2-MATERIEL ET METHODES

2-1 Matériel

2-1-1 Milieu d'étude

Les essais sont conduits au centre de la côte d'ivoire notamment à Yamoussoukro. Région imbriquant des unités forestières et des ilots de savane, elle possède une pluviométrie annuelle moyenne de 1200 à 1700 mm répartie suivant un régime bimodal. [13]

2.1.2 Matériel végétal

Photo 1 : Coques de cacao et Feuilles de moringa



Coques de cacao



Feuilles de moringa

Substrats pour fumure : *Theobroma cacao*–*Moringa oleifera*

Cultivar : *Aubergine Aub 21/06Du*, variété de CNRA (Centre National de Recherche Agronomique)

3. Méthodes

3-1 Optimisation de la formulation du biofertilisant selon le model du logiciel DESIGN EXPERT 11.

- Substrat 1 : *Coque de Cacao (C)*

- Substrat 2 : *Feuilles de Moringa (M)*

Tableau 1 : Proportion des fumures

Facteurs	Subtrat1	Subtrat 2
FORMULATION	CACAO	MORINGA
T1	0,25	0,75
T2	0,75	0,25
T3	0,50	0,50
T4C	1	0
T4M	0	1

Source Agronomie 2019,



Photo 2 : Test de minéralisation au laboratoire

3.1.1 Caractérisation physique et chimique

3-1.1.2 Substrats (broyat) : Méthode par calcination (voie sèche) (A.O.A.C).

Paramètre à déterminer : carbone organique total (CO), matière organique (MO), azote (N) total, phosphore (P), calcium (Ca), potassium (K), magnésium (Mg) exprimées en pourcentage de matière (% m.s)

3-1.1.3- Paramètres de Sol à analyser.

Analyse de sol	Norme	Objectif
Granulométrie	NFX 31-107	Quantités d'argiles, limon fin, limon grossiers, sable fin, sable grossiers
Carbone organique	NF ISO 10394	Taux de carbone organique, permet de calculer la quantité de Matière organique (MO=%Cx1.72)
pH eau	NFX ISO 10390	Mesure de la concentration en ions H ⁺ dans la solution de sol
Azote total	NF ISO 13878	Azote minéral et organique
Phosphore assimilable	NF ISO 11263	Taux de phosphore assimilable
CEC	AFNOR NF X 31-130	Mesure la charge négative potentielle du sol à pH =7 capacités d'échange cationique (CEC).
Ca ²⁺	AFNOR NF X 31-108	Bases échangeables, permet de calculer. le taux de saturation qui mesure la part de la charge potentielle occupée par les Cations.
Mg ²⁺	AFNOR NF X 31-108	
K ⁺	AFNOR NF X 31-108	
Na ⁺	AFNOR NF X 31-108	

Tableau 2 : Analyses de sol réalisées par le Laboratoire LAVESO de L'INP- HB sur les Horions (0-20 cm)

- Méthodes d'analyses des différents paramètres du sol.

a) Détermination du pH (suspension sol- eau (1 / 2,5))

La mesure du pH a été réalisée selon la norme internationale ISO 10390 (1994) ; la méthode consiste à préparer une suspension sol - eau dans un rapport pondéral de 1/2,5 (20 g de sol pour 50 ml d'eau distillée), laisser en agitation pendant cinq minutes puis la faire reposer pendant au moins trente minute. Le pH est ensuite mesuré à l'aide d'un pH-mètre de type **JENWAY,3520**.

b) Granulométrie (Méthode à la pipette de Robinson (**1922**)) conforme aux normes NEN5357 et ISO/DIS 11277. Elle a pour but de connaître la répartition quantitative pour chaque classe dimensionnelle des particules élémentaires constituant l'échantillon.

c) Carbone organique (Methode Walkley and Black (**1934**))

Minéralisation suivant laquelle la matière organique est oxydée à froid par attaque sulfochromique. L'excès de bichromate est dosé en retour avec du sel de Mohr (double sulfate de fer et d'ammonium).

d)Azote total (Méthode Kjeldahl)

La matière organique est détruite pendant au moins 3 heures à chaud en milieu sulfurique concentré. L'ammoniaque est distillée en milieu alcalin (soude 10N). Puis dosé.

e) Complexe absorbant : (Méthode à l'acétate d'ammonium à pH 7).

Extraction des bases échangeables à l'acétate d'ammonium à pH7, dosage au spectrophotomètre d'absorption atomique ; lavage à l'alcool le culot, extraction avec le chlorure de sodium et détermination de la capacité d'échange cationique (**CEC**) après distillation Kjeldahl. Les résultats sont exprimés en $cmol \cdot kg^{-1}$ de sol.

f) Phosphore assimilable (Méthode Olsen-Dabin)

Le dosage du phosphore assimilable a été fait par la méthode Olsen-Dabin

Elle consiste à extraire le phosphore par une solution de fluor d'ammonium (NH_4F) 0,03 M en présence de bicarbonate de sodium ($NaHCO_3$) 0,5M dans un rapport sol/solution. Le phosphore extrait est ainsi déterminé au spectrophotomètre par le bleu de molybdène.

3.2 Protocol Expérimental

- *Mise en place de la parcelle expérimentale* : la parcelle est divisée en trois grands blocs. Chaque bloc contient des témoins. Le traitement de chaque bloc s'est fait comme suit

Tableau 3 : Répartition des formulations sur la parcelle expérimentale

D ₁ (1kg/m ²)							D ₂ (2kg/m ²)	D ₃ (4kg/m ²)
BL1	T0	TAC	T2	T3	T1	T4M	6,5 m	
BL2	TAM	T3	T 0	T1	T4C	T2		
BL3	T1	TAC	TAM	T2	T3	T0		
41m							6,83m	

C : Broyat de coque de cacao.

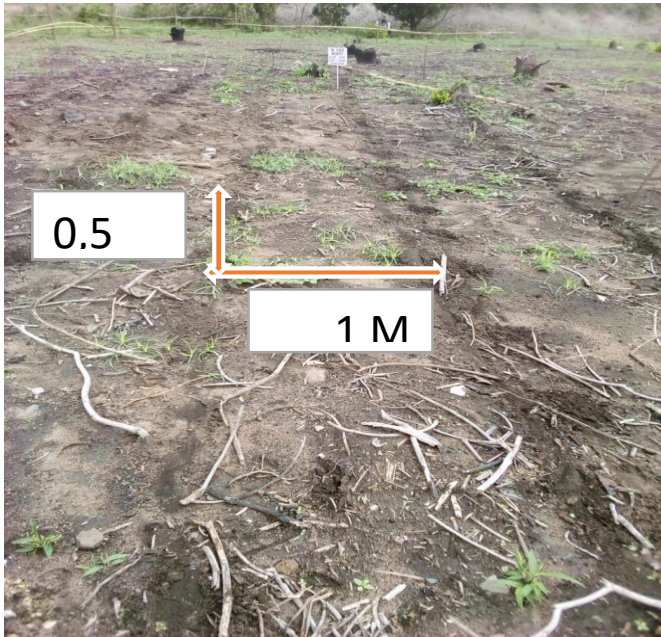


Photo 2 : Parcelle expérimentale

- M : Feuille de moringa.
- T₀ : Le témoin sans fertilisant
- T1 ; 75%M +25%C
- T2 :25%M +75%C
- T3 :50%M+50%C
- TAC : 100% de broyat de coque de cacao
- TAM : 100% de broyat de feuilles de moringa
- (D1) :1kg/m²du bio fertilisant
- (D₂) :2kg/m²du bio fertilisant
- (D3) :4kg/m²du bio fertilisant
- Semis
- Distance entre deux lignes plants : 1m
- Distance entre deux plants sur une ligne : 0,5m
- Profondeur trou : 1- 2 cm

4- RESULTATS ET DISCUSSIONS

4-1 RESULTATS

Tableau 4 : Caractérisation chimique des proportions du bio fertilisant effectuées.

	Comp1	Comp 2	Response 1	Response 2	Response 3	Response 4	Response 5	Response 6	Response 7	Response 8
Run	CACAO	MORINGA	N	C	MO	K	Ca	Mg	P	C/N
N°	PROPORTION		% m.s							
1	0,75	0,25	1,5	51	88	6	2	0,38	0,27	34
2	0	1	3	50	86	3	5	0,57	0,35	17
3	1	0	1,32	49	84	4	1	0,33	0,26	37
4	0,25	0,75	2,38	51	88	5,5	4	0,50	0,28	21
5	0,5	0,5	1,87	51	88	5	3	0,46	0,23	27

Les résultats analytiques de caractérisation chimique montrent une variabilité au niveau de la composition des formulations (**Tableau 4**). Ces résultats sont exprimés en pourcentage de matière sèche (% m. s). En générale, les formulations constituées sont riches en nutriments et en minéraux. Le substrat de coque de cacao est faible en azote (1,32 %) mais riche en potassium (4%), en carbone (49 %), en matière organique (M.O) (84%) et pauvre en calcium (1 %). Le ratio C/N est très élevé (37%). Le substrat de moringa est riche en azote (3%), en carbone (50 %), en calcium (5%), en matière organique (M.O) (86%) et le taux de potassium (3%). Le ratio C/N est (17%). La formulation de 75% de broyat de coque de cacao et 25% des substrats de feuilles de moringa indique une amélioration des nutriments et minéraux à savoir le carbone (51 %), la matière organique (88%) et le potassium (6%). Par contre l'azote est resté faible (1.5%). Le rapport C/N est (34%).

Les formulations, de (25%) de broyats de coque de cacao et (75%) des substrats de feuilles de moringa ensuite 50% de broyats de coque de cacao et 50% de substrats de feuilles de moringa, ont enregistré de façon significative de meilleurs résultats respectivement le taux d'azote (2,38% et 1,87%). La M.O induite par l'association des deux substrats est nettement augmentée (88%) le taux de carbone est (51%). Les ratio C/N respectifs (21% et 27%). Aux vues de ces résultats analytiques les formulations dans un rapport (1/2C sur 1/2M et 1/4C sur 3/4M) présenteraient les meilleurs profils d'une bonne minéralisation.

4-1-1 TABLEAUX COMPARATIFS DES CARACTERISTIQUES DU SOL

a) **Tableau 5** : caractérisation physique et chimique du sol initial et après le bio fertilisant.

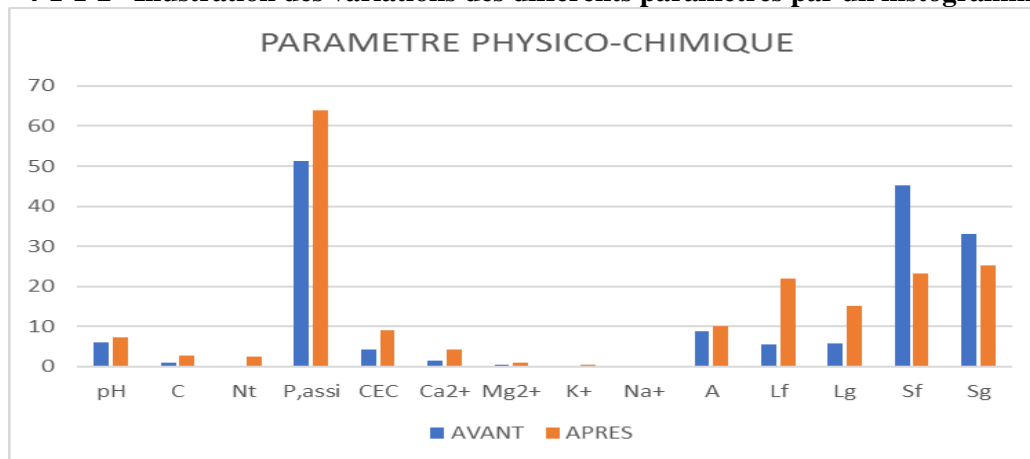
PHYSICO-CHIMIQUE	PARAMETRES	AVANT	APRES
CHIMIQUE	pH	6,1	7,2
	C	1,0	2,77
	Nt	0,1	2,56
	P,assi	51,3	64,0
	CEC	4,2	9,03
	Ca ²⁺	1,4	4,13
	Mg ²⁺	0,450	0,870
	K ⁺	0,1	0,365
	Na ⁺	0,1	0,11
GRANULOMETRIE	A	8,83	10,0
	Lf	5,5	22,04
	Lg	5,77	15,0
	Sf	45,13	23,1
	Sg	33,02	25,1

Les caractéristiques des sols analysés avant et après l'application du bio fertilisant montrent qu'il y a eu une modification physique et chimique des blocs. Une légère variation du pH (6,1 à 7,2).

Les teneurs en minéraux ont été augmentées par rapport au témoin à savoir, le calcium est passé de (1,354 à 4,132) le magnésium de (0,450 à 0,870) le potassium de (0,096 à 0,365) **cmol+/kg**. Le carbone et l'azote ont enregistré une nette variation respectivement (1,02% à 2,77%) et (0,12% à 2,56 %). Une amélioration de la capacité d'échange cationique (CEC) de (4,88 à 9,03) cmol+/kg et la somme des bases échangeables (2,05 à 5,48). Variation de la texture argilo sableuse à la texture limon argilo sableuse.

Ces analyses ont montré que les paramètres comme le pH, le carbone organique, l'azote, les bases échangeables et la CEC ont enregistré une augmentation sensiblement où il y a eu l'apport du bio fertilisant comparativement aux témoins.

4-1-1-2 Illustration des variations des différents paramètres par un histogramme



4.1.1.3 Aspect végétatif et fruits



BIOFERTILISANT (2Kg/m²)

BIO FERTILISANT (4Kg/m²)



Photo 3 ; Fruits de l'aubergine

Les paramètres agro morphologiques ont pris en compte la hauteur des plants, le diamètre au collet et la production. La croissance en hauteur des plants a été mesurée à l'aide d'un mètre ruban. Le diamètre au collet a été pris à l'aide d'un pied à coulisse. Tous ces paramètres de croissance ont été évalués à la première récolte à 120 jours après semis (JAS). En ce qui concerne la production le poids a été déterminé à chaque récolte. Dans l'ensemble les blocs qui ont bénéficiés de l'apport du bio fertilisant ont eu une bonne végétation comparativement aux témoins. Les plantes des blocs témoins sont restées rabougrie avec un jaunissement accentué des feuilles.

5- DISCUSSION

5-1 La caractérisation chimique des formulations (les fumures).

La caractérisation chimique des différentes formulations a montré que les fumures sont riches en éléments minéraux, et en matière organique. Cependant les fumures constituées de 25% de coque de cacao 75 % de feuilles de moringa et 50 % de coque de cacao 50 % des feuilles de moringa ont enregistré de façon significative de meilleurs résultats que les autres formulations. Le ratio C/N 21 et 27 respectif sont conformément aux ratios théoriques compris entre 20 et 30. Milieu favorable aux microorganismes qui participent à la décomposition du substrat riche en nutriment (la minéralisation). Les coques de cacao riches en carbone (51%) et en potassium (6%) de matière sèche possèdent un taux faible en azote (1,32%). Plus la proportion en substrat de coque cacao augmente plus le ratio C/N est très élevé (37). De ce fait, les décomposeurs n'y trouvent pas tous les éléments nécessaires à leur croissance ainsi qu'une humidité suffisante. L'association des feuilles de moringa aux coques de cacao améliore le taux d'azote, facilitant la digestion de ces substrats (dans un rapport 1/2C sur 1/2M et 1/4C sur 3/4M). Ainsi, la fumure constituée riche en matière organique fournirait aux microorganismes l'azote et le carbone. Ces résultats sont en conformité avec les études Jackson qui stipulent que l'exposition de la matière organique aux microorganismes accélère la minéralisation.[14]

C/N	<17	20 à 30	>30
Dégradation	Rapide	+/- Rapide	Lente
Fourniture en (N)	+/- Importante	Modérée	Nul à négatif

De façon générale, un manque d'azote implique un processus de dégradation lente et un excès d'azote ou un défaut de carbone entraînent des pertes importantes en azote

C/N<17.

Soulignons aussi que le ratio C/N, n'implique pas nécessairement un effet de dégradation lent ou rapide. Lorsque l'azote n'est pas limitant, ce sont davantage les caractéristiques biochimiques du résidu qui contrôlent sa décomposition. En effet c'est la structure biochimique des molécules considérées qui détermine la vitesse de dégradation et aussi les conditions de l'environnement favorables (température, la présence d'oxygène, présence de molécules activatrices...). D'ailleurs les coques de cacao riches en lignine forment un complexe rigide avec les protéines. Ce complexe reste résistant à la minéralisation. Les éléments composites de la matière organique ne se décomposent pas à la même vitesse. Selon (Stevenson,1986) la dégradation des végétaux suit un ordre : protéine > hydrates de carbone > cellulose > hémicellulose > lignine. Ainsi les coques de cacao riches en lignine ralentiraient sa décomposition. La combinaison de coque de cacao (C) et des feuilles de moringa (M) activateurs de croissance et riche en azote entraînerait une décomposition rapide lorsque les proportions (1/2C et 1/2M) et (1/4C et 3/4M) déterminées seraient respectées sur une période de deux mois et demi.

5.1.1. Sol

5-1-1.1 Discussion des résultats de sol

Les résultats d'analyses de l'état du sol avant et après l'application du bio fertilisant a pris en compte essentiellement la valeur absolue des différents paramètres, et l'état d'équilibre du complexe argilo humique. Concernant par exemple le carbone organique, le seuil de déficience retenu après confrontation avec des données de certains auteurs, a été de 1%, en référence à Boyer (1984).

a) Effet du bio fertilisant sur le pH

Variation du pH du sol légèrement acide (6,1) à un pH neutre (7,0) voir figure 2. Le taux de saturation (V) du complexe d'échange et les rapports entre les bases échangeables qui y sont fixés, influant à la fois le pH et par extension le fonctionnement biologique et minéral du sol. L'apport du bio fertilisant riches en calcium a induit le milieu alcalisant d'où la variation légère du pH.

b) Effet du bio fertilisant sur les propriétés chimiques.

-Le taux de carbone organique (C) du sol.

La discussion a été faite sur la base des relations avec le niveau d'apport de matière organique par la fumure.

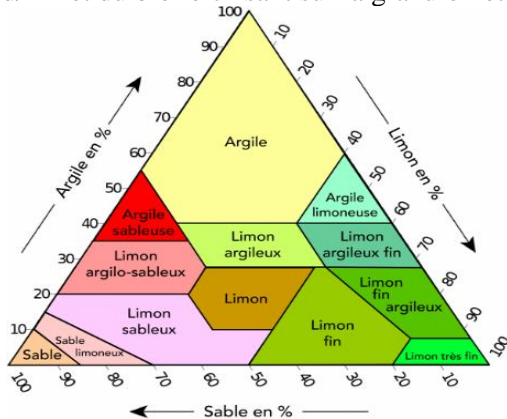
Le taux de carbone apporté par la fumure est autour de (51%) par extension riche en matière organique (88%) soit (MO = %C x 1,72). Les résultats d'analyses du carbone du sol avant l'amendement était faible (1,02%) et après application du fumure le taux du carbone est hautement amélioré (2,77%). Le rapport carbone/azote (C/N) conditionne les processus de minéralisation ou au contraire de réorganisation de l'azote du sol. Le rapport matière organique/argile + limon fin, détermine la richesse relative du sol en matière organique. Un rapport inférieur à 7, traduit en principe une sensibilité accrue du sol à l'érosion et par extension sa pauvreté en matière organique, principal facteur de la stabilité physique des sols. Aux vues de ce qu'il précède, le rapport matière organique/argile+limon fin, est supérieur à 7 voire 14,86 confirmants que notre parcelle est beaucoup fournie en humus pour permettre aux plants de bien se développer. La matière organique serait l'élément central de l'état de fertilité d'un sol. Pour étayer cette idée les études de (Loveland et Webb,2003) ont montré que, la matière organique contrôle en grande partie les propriétés, physiques, chimiques et biochimiques du sol et influence en conséquence les propriétés fonctionnelles du sol, Comme la stabilisation des agrégats . La matière organique apportée a entraîné une réorganisation structurale du sol. Le complexe argilo limoneux, avant (20,1cmol*kg⁻¹) et après application du fumure (47,04cmol*kg⁻¹), de façon significative s'est amélioré permettant une immobilisation importante des minéraux. Elle a amélioré la cohérence des éléments structuraux et favorisé la rétention en eau utile. Le taux de saturation de la CEC (capacité d'échange cationique) a été calculé en excluant le sodium, c'est-à-dire qu'il a été égal à : (Ca²⁺ + Mg²⁺ + K⁺) * 100 / CEC. De la sorte, il a concerné la contribution des éléments nutritifs majeurs à la saturation du complexe absorbant.

C/ Effet du bio fertilisant sur les propriétés physiques

La structure du sol maintient ses propriétés physiques telles que la perméabilité, la porosité et la capacité de rétention d'eau. La structure en agrégats est la plus favorable car les ions sont sous forme de complexes, liés à l'argile et à l'humus évitant ainsi leur lessivage vers les couches profondes les rendant disponibles pour les plantes (Duchaufour, 1951). Ce phénomène est essentiellement favorisé par la richesse de la parcelle en matière organique pouvant retenir les éléments minéraux dans les couches

superficielles. Selon (Garcia et al.,2012), l'ajout de matière organique au sol permettrait à la plante de résister aux conditions de déficit hydrique. Ainsi, notre fumure a amélioré les caractéristiques organiques du sol et leur fertilité, tout en représentant une voie durable. Les feuilles de moringa, qui sont riches en calcium, ont un effet alcalinisant sur le sol. D'où par extension la variation du pH (6,1 à 7,2). La fertilisation organique serait un phénomène naturel pour lequel le contrôle des conditions biologiques et physico-chimiques optimise le processus de dégradation. La décomposition de la MO (Matière Organique) se traduit par une consommation de l'azote et du carbone et donc par une diminution du rapport C/N du sol (Bernal et al.,1998). En effet, les micro-organismes utiliseraient le carbone des matières organiques comme source d'énergie à travers des oxydations dites métaboliques et l'azote comme source protéique. Cependant, l'évolution de la stabilité structurale du sol dépend du taux de matière organique et de sa teneur en azote (Abiven et al.,2004).

d/ Effet du bio fertilisant sur la granulométrie.



(Triangle des textures)

Textu[]u sol avant l'application du bio fertilisant.

Textu[]u sol après l'application du bio fertilisant.

Le sol avant l'apport du bio fertilisant a une texture argilo- sableuse dépourvu en matière organique, diminue la valeur de l'angle de contact des particules sableuses et augmente la circulation de l'eau entraînant les nutriments. Cela provoque une déstabilisation structurale. L'apport de la fumure a modifié la texture du sol le rendant limon argilo-sableuse. Ainsi les minéraux et les matières organiques sont associés pour former des agrégats et mottes. Ce processus de transformation favorisé par les microorganismes a immobilisé les nutriments permettant la richesse du sol. Les colloïdes humiques augmentent la capacité d'échange du sol. Cette propriété rend la M.O dans certains milieux comme les sols sableux, la principale réserve des bases disponibles (K^+ et Ca^{2+}) (Balesdent, 1996). Le calcium augmente avec l'accroissement de la dose de la matière organique apportée (1,354 à 4,132 cmol/kg). Cela se justifie par le fait que le moringa est riche en calcium.

e / Effet du bio fertilisant sur les aspects visuels des plantes (l'Aubergine).

Un effet significatif de l'application du bio fertilisant sur la croissance végétative des plants. Les hauteurs moyennes des plants à la floraison et en fin de récolte ont varié de (60 à 140 cm) comparativement aux témoins (30 à 40 cm). Il y a une corrélation entre la hauteur, le diamètre au collet et le rendement. Les plantes des blocs témoins sont rabougries avec un jaunissement accentué des feuilles. En théorie, le jaunissement du limbe est induit par une déficience absolue ou relative soit de l'azote soit du phosphore, la différence étant liée à la disposition des stries jaunes. Sur ces blocs témoins le ratio C/N est faible (8,5) associé à un taux de carbone inférieur ou à peine égal à l'unité (1%). Le jaunissement pourrait être dans ce cas causé par un déficit d'azote. Voir (photo3).

Dans l'ensemble les blocs tests ont eu plus ou moins un taux satisfaisant d'azote qui serait à la base de la végétation verdoyante. Nous constatons aussi qu'il y a une interaction entre la richesse du sol en éléments nutritifs et la morphologie des plantes. La végétation séduisante visuellement tire son origine dans l'existence d'une bonne activité biologique dans le sol et s'apprécie à travers le niveau de matière organique dont sa décomposition donne l'humus. Ainsi l'azote favorise l'utilisation des hydrates de carbone, stimule le développement et l'activité racinaire, facilitant l'exportation des éléments minéraux et la croissance des plantes [15]

6-1- ANALYSES STATISTIQUES DES PARAMETRES AGROMORPHOLOGIQUES.

6.1.1 Analyses des données

Les paramètres mesurés sur le terrain ont été analysés avec le logiciel Statistica, version 7.1. L'analyse multiple de la variance (ANOVA) a été utilisée en vue d'étudier l'effet global du bio fertilisant, sur les paramètres de croissance et de rendement. ANOVA a révélé une influence positive significative de plusieurs facteurs ou de leurs interactions sur un groupe de variables dépendantes, ils ont été sélectionnés. Les facteurs ainsi retenus ont fait l'objet d'une analyse de variance (ANOVA) en vue d'étudier leur effet individuel ou combiné sur les paramètres étudiés. Lorsqu'une différence significative est notée entre les facteurs pour une variable donnée, nous procédons à des comparaisons multiples en effectuant le test de la plus petite différence significative (*ppds*) par la comparaison des moyennes des moindres carrés deux à deux. La signification du test est déterminée en comparant la probabilité (P) associée à la statistique du test à la valeur théorique $\alpha = 0,05$

Ainsi, lorsque $P \geq 0,05$, on déduit qu'il n'y a pas de différence entre les moyennes. Par contre, lorsque $P < 0,05$, il existe une différence significative.

Traitement	Rendement (kg)	Hauteur (cm)	Diamètre (cm)
Cycle			
C1	259,81 a	71,98 b	3,23 c
C2	240,87 a	63,48 a	2,74 b
C3	235,40 a	64,02 a	2,51 a
Dose			
1kg	104,00 a	56,92 a	2,31 a
2kg	195,25 b	66,78 b	3,00 b
4kg	436,83 c	75,77 c	3,16 c
Traitement			
T0	80,50 a	31,19 a	1,52 a
T1	511,76 e	105,57 e	4,73 f
T2	176,97 c	64,14 c	2,83 d
T3	376,65 d	79,96 d	3,29 e
T4	144,65 b	55,51 b	2,11 b
T5	181,63 c	62,58 c	2,47 c
p-value			
Cycle (C)	0,05	<0,001	<0,001
Dose (D)	<0,001	<0,001	<0,001
Traitement (T)	<0,001	<0,001	<0,001
C x D	0,40	0,46	<0,001
C x T	0,31	<0,001	<0,001
D x T	<0,001	<0,001	<0,001
C x D x T	0,08	<0,001	<0,001

Tableau 6: Valeurs des paramètres de rendements en fonction des traitements ,doses et cycles

6.1.1.2 Effet de la dose sur la hauteur en fonction du cycle

La figure.8 représente les hauteurs pour chaque traitement en fonction du cycle et de la dose du biofertilisant. Au premier cycle la hauteur moyenne (71,98cm) enregistré est significativement différente entre les cycles (2 et 3) respectivement (63,8 cm) et (64,02 cm) En revanche, les hauteurs obtenues à la dose de 4 kg étaient très hautement significativement ($p < 0,001$) plus élevé que les doses de 2 kg et 1kg et le témoin. (Do) voire (**Tableau7**) Au niveau des traitements, des différences significatives ont été observées. Les hauteurs les plus élevés ont été obtenus avec le traitement T1 (105,57cm) suivi du traitement T3 (79,96 cm) . Les traitements T5 (62,58cm) et T2 (64,14 cm) qui suivent ne sont pas significativement différents entre eux. Ces traitements sont suivis de T4 (55,51cm) et enfin de T0 (31,19 cm) qui ont enregistré les hauteurs les moins élevées.

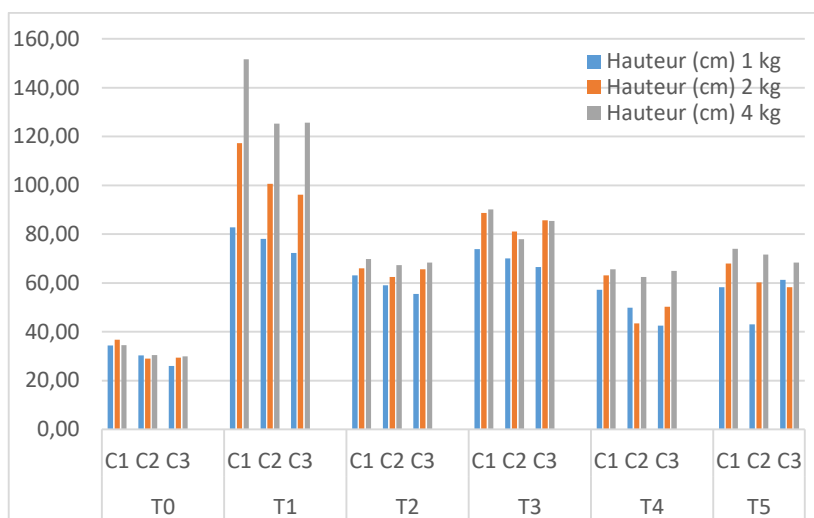


Figure 8

6-1-1-3 Effet de la dose sur le diamètre en fonction du cycle

La figure 9, présente les différents diamètres au collet des plantes. Au niveau des cycles, des différences significatives ont été enregistrés ($p > 0,001$). La moyenne des diamètres au collet des plantes du cycle 1 (3,23cm) est nettement supérieure que les diamètres des plantes du cycle 2 (2,74 cm) et du cycle 3 (2,51cm). Le tableau 7 a relevé une différence significative entre l'effet de la dose sur le diamètre. La dose 4kg a induit le meilleur diamètre (3,16 cm) suivie de la dose 2kg (3cm) et enfin la dose 1kg (2.31 cm). En ce qui concerne les traitements les résultats nous indiquent que T1(4,73 cm) et T3 (3,29 cm) ont eu un impact significatif sur le diamètre au collet des plantes que les autres traitements. En suite viennent les traitements T2 (2,83 cm) et T5 (2,47 cm). Les traitements T4 (2,11cm) et T0 (1.52cm) ont eu les plus faibles diamètres.

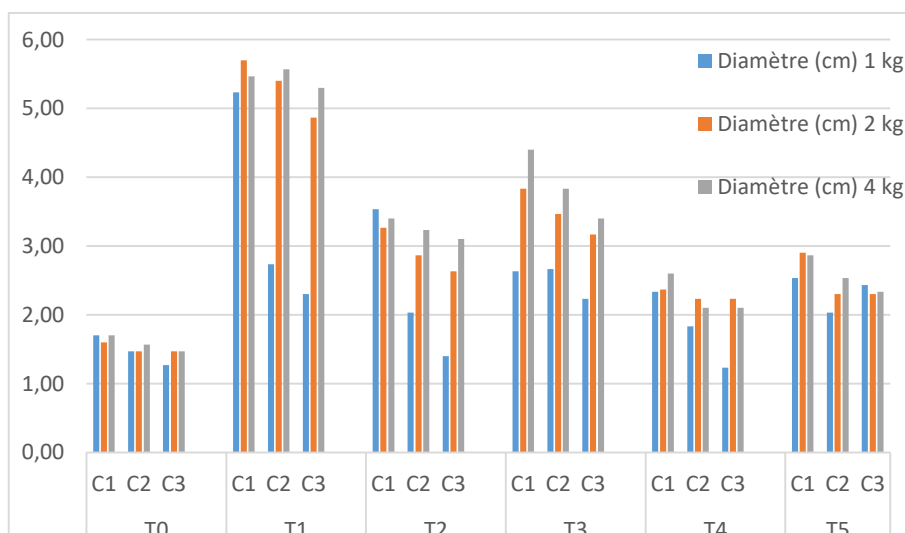


Figure 9

III2-2-4 Effet de la dose sur le rendement en fonction du cycle

La figure.10 représente les rendements pour chaque traitement en fonction du cycle et de la dose du bio fertilisant. En ce qui concerne le cycle, aucune différence significative n'a été observée sur le rendement. En revanche, les rendements obtenus à la dose de 4 kg (436,83 kg) étaient très hautement significativement ($p < 0,001$) plus élevés que les doses de 2 kg (195,25) et 1kg (104,00) et le témoin. (To) voire (Tableau7). Au niveau des traitements, des différences significatives ont été observées. Les rendements les plus élevés ont été obtenus avec le traitement T1 (511,76kg) suivi du traitement T3 (376,65kg). Les traitements T5 (181,63kg) et T2(176,97kg) qui suivent ne sont pas significativement

différents entre eux. Ces traitements sont suivis de T4 (144,65kg) et enfin de T0 (80,50kg) qui a enregistré le rendement le moins élevé.

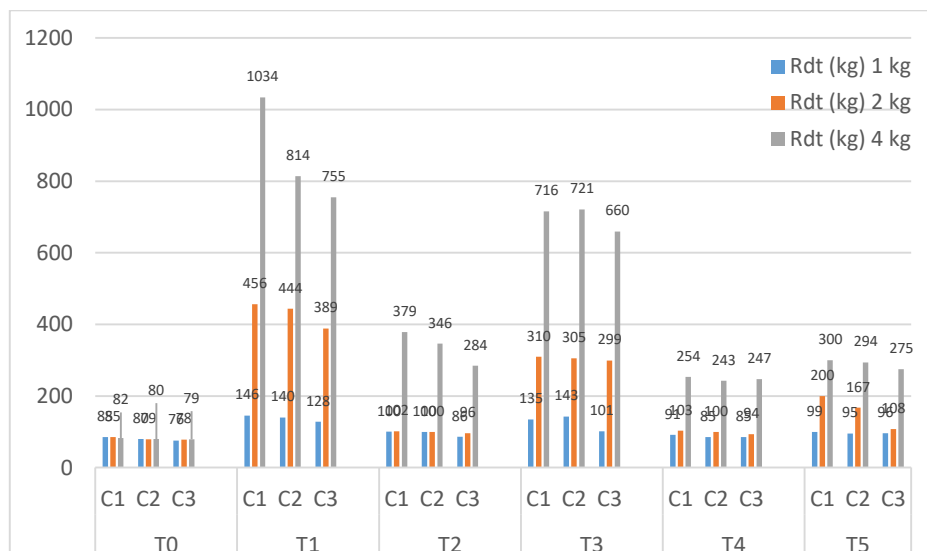


Figure 1

IV - DISCUSSION DES RESULTATS

Le tableau 6 présente les résultats obtenus à l'issue des tests agro morphologiques, indique qu'il y a eu une différence significative entre les cycles affectant la hauteur et le diamètre au collet. Cela s'explique par le fait que les nutriments immobilisés au premier cycle ont été utilisés en grande partie par les plantes. Donc le stock disponible a diminué. N'ayant pas d'apport après la récolte ceci a eu un effet d'épuisement progressif sur les deux cycles à tel enseigne que la hauteur et le diamètre au collet ont été réduits. Cependant il n'y a pas eu de différence significative entre les rendements de chaque cycle. Par contre, concernant les traitements et les doses, les résultats obtenus ont montré un effet significatif au niveau des paramètres agro morphologiques. Les traitements T1 et T3 ont eu les meilleurs effets sur les paramètres de croissances de l'aubergine. Notamment la hauteur et le diamètre au collet. Ce constat est dû au fait que le bio fertilisant renferme les nutriments directement assimilables par la plante qui aurait favorisé la croissance et la vigueur des plantes enregistrées. De façon spécifique les substrats de coques de cacao associés aux feuilles de moringa riche en azote en phosphore et en potassium a stimulé la croissance des plantes donnant de meilleurs rendements. Tandis qu'au niveau des traitements T2 et T4 les analyses indiquent un faible rendement dû à la lenteur de la décomposition des formulations effectuées à cause du pourcentage élevé de lignine dans le substrat de coque de cacao. Ceci étend les plantes ne sont pas bien approvisionné en nutriments. Le traitement T5 constitué uniquement de substrat de feuilles de moringa s'est vite décomposé entraînant l'épuisement rapide des nutriments voire l'azote. L'application du bio fertilisant a permis d'avoir une augmentation du rendement de l'aubergine (511,76 kg) par rapport au témoin sans fertilisant (80,50kg). Ce résultat est vraisemblablement dû à l'accessibilité directe des éléments nutritifs N, P et K apportés au sol par le bio fertilisant. Il est donc probable que les augmentations enregistrées pour les traitements T1 (511,76 kg) et T3 (376,65 kg) soient dues aux effets conjugués des trois éléments N, P et K. Des résultats similaires ont été obtenus en Côte d'Ivoire sur le manioc (**Bakayoko et al., 2009**)

Ces résultats ont montré que les rendements les plus élevés avaient été enregistrés par les apports en N, P et K. Par ailleurs, **Loué (1977)** a signalé que le potassium contribue à l'amélioration des calibres, tandis qu'une déficience en K entraînerais une plus grande proportion de petits calibres

CONCLUSION

Les résultats des tests effectués au cours de cette étude, ont montré que, l'application du bio fertilisant, a eu d'effets significatifs sur les paramètres chimiques et physiques et biochimiques du sol à court terme. Variation au niveau du pH, de la matière organique, de la capacité d'échange cationique,

des bases échangeables et de la texture du sol. Par ailleurs cette richesse acquise par le sol a eu un impact considérable sur les paramètres de croissance végétative des plants contrairement au témoin T0. Les formulations T1 et T3 ont enregistré les meilleures minéralisations permettant une immobilisation importante des éléments nutritifs. Nos résultats sont en adéquation avec ceux de **Hien et al. (2018)**. Il a montré que des quantités disponibles d'éléments nutritifs dans le sol pour les plantes sont faibles. Cet auteur en appliquant le vermicompost sur le sol de culture de la tomate et du chou a amélioré les paramètres de croissance.

Vue l'importance des résultats enregistrés, les essais de fertilisations de bio fertilisants à base de substrat de coque de cacao et des feuilles de moringa sont proposés sur une longue période pour mieux apprécier les formulations effectuées. Malgré ce temps court nous avons enregistré un impact considérable sur le rendement de l'aubergine récoltée.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Banque Mondiale, 2018 Sources d'emploi et revenu de la population Ivoirienne.
- [2] BNETD ,2019. Superficies mise en culture 53% par commod AFRICA.
- [3] Mangalassery S ,MooneyS J ,SpkesDL.Fraserw.T , SjoerstenS. (2015). Impacts of zero tillage on soil enzyme activities, microbial characteristics and organicmatterfunction al chemistry in temperatesoils. *Eur.J.soil Biol.*; 68 : 9-10.
- [4] FAO,2015. Le sol ressource essentielle pour l'agriculture et l'humanité, (<http://www.fao.org/soils.2015/news-detail/fr/c/326309/Accessed10>).
- [5] Bado B.V.,2002a. Rôle des légumineuses sur la fertilité des sols ferrugineux tropicaux des zones guinéenne et soudanienne du Burkina Faso. Thèse de philosophia Doctor, Université de Laval. Canada,184p.
- [6] Bonzi. F. Lompo, I.D. kiba ,A.koné,N.ouandaogo,and.PM.sédogo,2011. AStudy of the AgronomicEfficiency of Human Stool an, Urine on Production of Maïze and Egg Plant in Burkina Faso. *In innovations as key to the GeenRevolution in Africa:Exploring the Scientific Facts*, Springe.Science& Business Media,p:641-650.
- [7] Scardigli, M. 2006. Bien nourrir les plantes pour mieux nourrir les Hommes, la lettre de l'UNIFA, N° 15, <http://www.unifa.fr/component/phocadownload/category/2-lettres-de-l-unifa.html?download=36:lettre-n-15>. Accédé le 11/1/2013.
- [8] Du Jardin,2015. les bio fertilisants sont des bio stimulants microbien améliorant l'efficacité de la nutrition des plantes.
- [9] Bodet, J.M., Hacala, S., Aubert, C et Texier, C., 2001.Fertiliser avec les engrais de ferme, IE. ITAU. ITCF, ITP ; 104. Fertilisant organique permet d'optimiser les processus biologiques du sol et physiologiques des plantes.
- [10] Yapo,2013 Decomposition des coques de cacao reste très lente constitués de lignine
- [11] Djéké D.M., T.K.P. Angui, et Y.J. Kouadio, "Décomposition des broyats de coques de cacao dans les sols ferrallitiques de la zone d'Oumé, centre-ouest de la Côte d'Ivoire : Effets sur les caractéristiques chimiques des sols", *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, Vol. 15 (2011) n°1: pp. 109-117., 2011.
- [12] Lowell Fuglie,2000 Moringa riches en azote et activateurs de croissance par des substances actives la Zeatine une hormone végétale du groupe des Cytokinines.
- [13] Anonyme ,2020 Pluviométrie annuelle moyenne 1200 à 1700mn à Yamoussoukro
- [14] Jackson,2003.L'exportation de matière organique accélère la minéralisation.
- [15] Stevenson ,F.J.1986 cycle of soils. C, N ,P ,S micronutrients .J. Wiley and sons , New york , 380p
- [16] Duchaufour, pH , Sol, végétation, environnement, (1997) p291.
- [17] Garcia C.A., Berbara L.L.R., Farias P.L., Izquierdo F., Hernandez O.L., Compos H.R., Castro M.R., 2012. Humicacids of vermicompost as an ecologicalpathway to increaseresistance of riceseedlings to water stress. *Afr. J. Biotechnol.*, 11 (13):3125-3134
- [18] Bernal, MP a, Sánchez-Monedero MA, Paredes C, Roig A, 1998. Carbon mineralization from organic wastes at different composting stages during their incubation with soil. *Agriculture, Ecosystems Environment*, 69 : 175-189Bernal, M.P., C. Paredes, M.M.A. Sanchez, and J. Cegarra. 1998. Maturity and stability parameters of composts prepared with a wide range of organic wastes. *Bioresource Technology* 63:91-99.
- [19] Abiven, S.. 2004. Relations entre caractéristiques des matières organiques apportées, dynamique de leur décomposition et évolution de la stabilité structurale du sol. Rennes, Agrocampus. 262p.
- [20] Balesdent J., 1996. Un point sur l'évolution des réserves organiques des sols en France. *Etude et gestion des sols. INRA.(afes)*. Vol 3 N°4. Paris. pp 245-260.

Synthèse et étude structurale de deux dérivés c-acylés de la 4- hydroxycoumarine

22^{èmes} Journées Annuelles de la SOACHIM, Août 2022, Ouagadougou, BF



Laboratoire de Chimie Moléculaire et de Matériaux (LC2M)

Youssoufou Bakouan¹, Bintou Sessouma¹, Lassané Tarpaga¹, Rawendé Sedego¹, Jules Yoda², Abdoulaye Djandé¹,

¹Laboratoire de Chimie Moléculaire et de Matériaux (LC2M)/Université Joseph KI-ZERBO, Burkina Faso

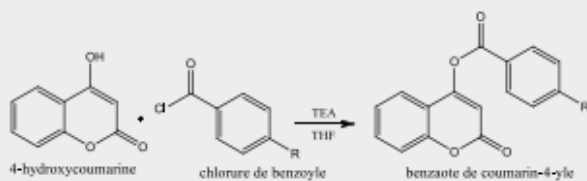
²Institut de Recherche en Sciences de la Santé (IRSS/CNRST)/Département de Médecine et Pharmacopée Traditionnelles-Pharmacie (MEPHATRA-PH), Burkina Faso

SYNTHÈSE ET ÉTUDE STRUCTURALE DE DEUX DÉRIVÉS C-ACYLÉS DE LA 4-HYDROXYCOUMARINE

INTRODUCTION MÉTHODES DE SYNTHÈSE

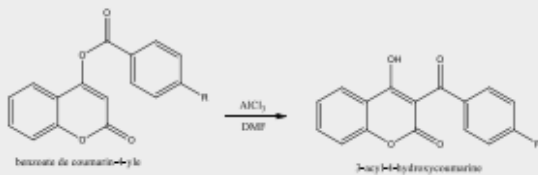
1^{ère} étape : O-acylation

Les 3-acyl-4-hydroxycoumarines sont des hétérocycles oxygénés, obtenus par C-acylation de la 4-hydroxycoumarine en milieu basique. Ce travail rapporte la synthèse de ces composés et leur étude structurale (IR et RMN du ¹H et du ¹³C).



TEA : triéthylamine; THF : tétrahydrofurane 1: R=CH₃; 2: R=Cl

2^{ème} étape : Réarrangement → C-acylation

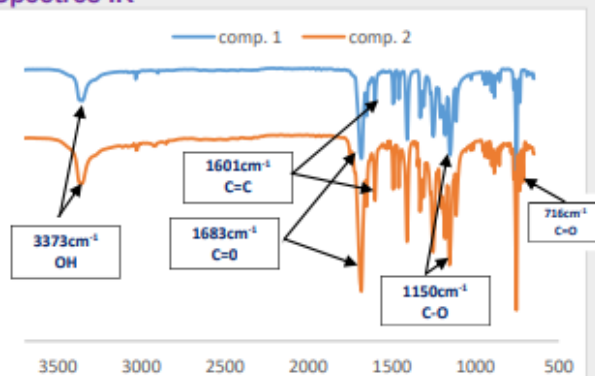


RÉSULTATS

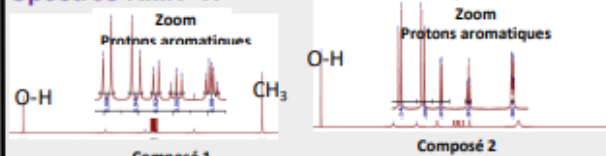
Aspect et Point de fusion(Pf)

Composés	R	Aspect		Pf	
		O-acylés	C-acylés	O-acylés	C-acylés
1	CH ₃	Incolore	Jaune	120-122	191-194
2	Cl	Incolore	Jaune	202-204	235-237

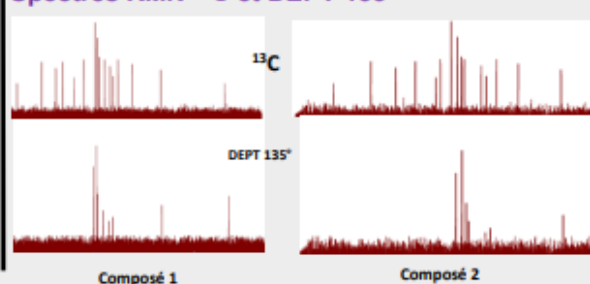
Spectres IR



Spectres RMN ¹H



Spectres RMN ¹³C et DEPT 135°



CONCLUSION & PERSPECTIVES

- Obtention de deux dérivés C-acylés par O-acylation de la 4-hydroxycoumarine suivie d'un réarrangement de Fries.
- Les données spectroscopiques IR et RMN du proton ¹H et du carbone ¹³C ont permis de caractériser et de confirmer, pour la première fois, la structure des composés synthétisés.
- ✓ Synthèse de nouveaux autres composés,
- ✓ Évaluation des propriétés biologiques des composés synthétisés

Ref: G. Cravotto et al. 3-acyl-4-hydroxycoumarine: structure ant antibacterial activity, *Arch. Pharm*
M. Ghaté, et al. "Synthesis and in vivo analgesic and anti-inflammatory activity of Coumarin derivatives," *Eur. J. Med. Chem.*
S. Slaka. et al "1-Coumarin-3-yl-benzoates as a Series of New Fluorescent Compounds" *American journal of Organic Chemistry*.

Qualité botanique et constituants chimiques et antiradicalaires de deux plantes utilisées dans les troubles de ménopause au Mali

Doumbia Sékou¹, Haidara Mahamane¹, Dembele Daouda L¹, Demele K Oumou², Sanogo Rokia^{1,2}

¹Faculté de Pharmacie, Université des Sciences des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB). BP 1805 Mali.

²Département Médecine Traditionnelle, Bamako, BP 1746 Mali.

Email : s2doumbia@yahoo.fr Tel : 0022379494206

Résumé

Au Mali, plusieurs plantes sont utilisées en médecine traditionnelle dans le traitement des troubles de la ménopause.

La présente étude a pour objectif de déterminer les caractères microscopiques, les constituants chimiques et antiradicalaires de *Afrormosia laxiflora* et *Pterocarpus erinaceus*.

La microscopie a été effectuée sur les poudres préparées avec le réactif Gadzet du Chatelier. Les constituants chimiques et antiradicalaires ont été caractérisés par des réactions en tube et par CCM. Une solution méthanolique de DPPH, a permis de caractériser les constituants antiradicalaires sur les chromatogrammes des extraits. La concentration inhibitrice 50 (CI₅₀) des extraits riches en constituants antiradicalaires a été déterminée au spectrophotomètre.

Les éléments microscopiques les plus fréquents sont les fragments d'épiderme avec stomates, poils tecteurs, cristaux d'oxalate de calcium et grains d'amidon. Les principaux constituants chimiques sont des tanins, anthracénosides, saponosides, coumarines, stérols et triterpènes. L'extrait éthanolique et le décocté de feuille de *A. laxiflora* et le décocté d'écorce de tronc de *P. erinaceus* ont été les plus riches en constituants antiradicalaires anti DPPH, avec respectivement des CI₅₀ de 3,947 ; 2,271 et 1,65 µg/mL.

Ces résultats peuvent contribuer à l'efficacité de ces extraits dans la prise en charge des troubles de la ménopause.

Mots clés : Mali, *Afrormosia laxiflora*, *Pterocarpus erinaceus*, constituants chimiques antiradicalaires.

Botanical quality and chemical and antiradical constituents of two plants used in menopausal disorders in Mali

Abstract

In Mali, several plants are used in traditional medicine in the treatment of menopausal disorders.

The present study aims to determine microscopic characters, chemical and antiradical constituents of *Afrormosia laxiflora* and *Pterocarpus erinaceus*.

Microscopy was performed on the powders prepared with the Gadzet du Chatelier reagent. The chemical and scavenging constituents were characterized by tube reactions and by TLC. A methanolic solution of DPPH made it possible to characterize the antiradical constituents on the chromatograms of the extracts. The inhibitory concentration 50 (IC₅₀) of the extracts rich in antiradical constituents was determined using a spectrophotometer. The most frequent microscopic elements are fragments of epidermis with stomata, covering hairs, crystals of calcium oxalate and grains of starch. The main chemical constituents are tannins, anthracenosides, saponosides, coumarins, sterols and triterpenes. The ethanolic extract and the leaf decoction of *A. laxiflora* and the stem bark decoction of *P. erinaceus* were the richest in anti-DPPH antiradical constituents, with IC₅₀ values of 3.947, respectively; 2.271 and 1.65 µg/mL.

These results may contribute to the effectiveness of these extracts in the management of menopausal disorders.

Key words: Mali, *Afrormosia laxiflora*, *Pterocarpus erinaceus*, antiradical chemical constituents.

1. Introduction

A partir de la sixième décennie chez la femme, de nombreuses maladies affectant la qualité de vie commencent à apparaître. Ces maladies sont les conséquences de la ménopause qui marque la fin de la fonction menstruelle. Elle correspond à la cessation de l'activité ovarienne et s'accompagne d'une régression des caractères sexuels, de bouffées de chaleur et parfois de perturbations psychiques et neuroendocriniennes [1]. Les changements endocriniens peuvent entraîner plusieurs pathologies dont l'ostéoporose, les maladies cardiovasculaires et le cancer [2]. Les symptômes caractérisant la ménopause peuvent être très gênants pour la femme en affectant sa mobilité et son comportement socioprofessionnel.

La prise en charge des troubles liés à la ménopause repose principalement sur l'utilisation des produits à base d'œstrogène et de progestérone. Or, l'accessibilité financière et géographique de ces médicaments n'est pas évidente pour les populations des pays en voie de développement. De plus, l'hormonothérapie

de la ménopause expose la femme à de nombreux risques comme les maladies cardiovasculaires, le cancer [3, 4].

Plusieurs études épidémiologiques, menées sur des populations asiatiques, ont montré que l'incidence de maladies liées au vieillissement est moindre chez des femmes ménopausées asiatiques par rapport aux occidentales. Cet état de fait est très probablement dû à la consommation de soja, riche en phyto-œstrogènes, par les femmes asiatiques [5].

Au Mali, de nombreuses plantes sont utilisées dans la prise en charge des troubles de la ménopause. Ce travail avait pour but de contribuer à la prise en charge des troubles de la ménopause par les plantes médicinales. Son objectif était de déterminer les caractères microscopiques, les constituants chimiques et antiradicalaires de *Afrormosia laxiflora* et *Pterocarpus erinaceus*, deux plantes traditionnellement utilisées dans la prise en charge de la ménopause au Mali.

2. Matériel et méthodes

Les feuilles, les écorces de tronc et les racines de *Afrormosia laxiflora* et *Pterocarpus erinaceus* ont été récoltées au mois de Juillet à Koulikoro (centre du Mali). Les échantillons ont été ensuite séchés à l'ombre pendant deux semaines dans la salle de séchage du département médecine Traditionnelle (DMT). Une fois séchés, ils ont été pulvérisés.

1.1 Détermination des caractères microscopiques

Une petite quantité de poudre a été prélevée à l'aide d'une spatule, mise dans un creuset en aluminium et triturée avec le réactif de Gadzet du Chatelier. Le mélange a été monté entre lame et lamelle avant d'être examiné au microscope. Le montage a été d'abord observé au faible grossissement (objectif 10) ensuite au fort grossissement (objectif 40). Les éléments microscopiques ont été photographiés à l'aide d'un appareil téléphonique de marque Techno F1.

1.2. Préparation des extraits

Les extraits préparés ont été le décocté et l'extrait éthanolique à 70 %.

Décocté. Un volume de 1000 mL d'eau distillée a été versé dans un erlenmeyer contenant 100 g de poudre végétale. L'ensemble a été porté à ébullition pendant 15 minutes. La solution obtenue a été filtrée après refroidissement.

Macération à l'éthanol 70 %. 1000 mL d'éthanol à 70 % ont été ajoutés à 100 g de poudre végétale dans un erlenmeyer. L'ensemble a été maintenu sous agitation magnétique pendant 24 heures puis filtré. Les solutions obtenues après extraction ont été concentrées au Rotavapor à 55°C et lyophilisées avec un lyophilisateur type HETO DRYWINNER. Les rendements ont été ensuite calculés.

Ces extraits ont été ensuite utilisés pour la caractérisation des constitutions antiradicalaires et la détermination des concentrations inhibitrices 50 (CI₅₀)

1.3. Détermination des constituants chimiques

Les constituants chimiques ont été caractérisés par les réactions en tube selon les méthodes classiques de caractérisation comme rapportées par dans la Pharmacopée africaine [6]. Les résultats ont été classés selon l'intensité de la réaction : composé abondant (+++), composé moyennement abondant (++), composé faiblement présent (+), composé absent (-).

1.4. Détermination des constituants antiradicalaires

Les constituants antiradicalaires ont été d'abord caractérisés sur plaque CCM, la concentration inhibitrice 50 (CI₅₀) des extraits les plus riches a été ensuite déterminée au spectrophotomètre.

○ Détermination qualitative.

La méthode de réduction du radical 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) a été utilisée. Les chromatogrammes des extraits ont été migrés dans le système de solvant, acétate d'éthyl – méthyléthylcétone – acide formique – eau (5 – 3 – 1 – 1) avant d'être révélées avec une solution méthanolique de DPPH à 2 mg/ml. Les constituants antiradicalaires se présentent sous forme taches de coloration jaune, sous fond violet [7,8]. La concentration inhibitrice 50 (CI₅₀) des extraits les plus riches en constituants antiradicalaires a été déterminée au spectrophotomètre.

○ Détermination de la concentration inhibitrice 50 (CI₅₀).

La détermination des CI₅₀ des extraits les plus riches en constituants antiradicalaires a été faite selon la méthode décrite par Velázquez et al. (2003) [9]. Un volume de 1400 microlitres de la solution méthanolique de DPPH à 25 mg/l a été ajouté à 700 microlitres d'extrait à des concentrations situées entre 0,1 et 100 µg/ml. Ce mélange de solutions a été agité puis incubé pendant 30 minutes à l'abri de la lumière. L'absorbance a été mesurée à 517 nanomètres. Le méthanol a été utilisé pour mettre

le spectrophotomètre à zéro. L'acide gallique a été utilisé comme contrôle positif. Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH a été calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{(A - B) \times 100}{A}$$

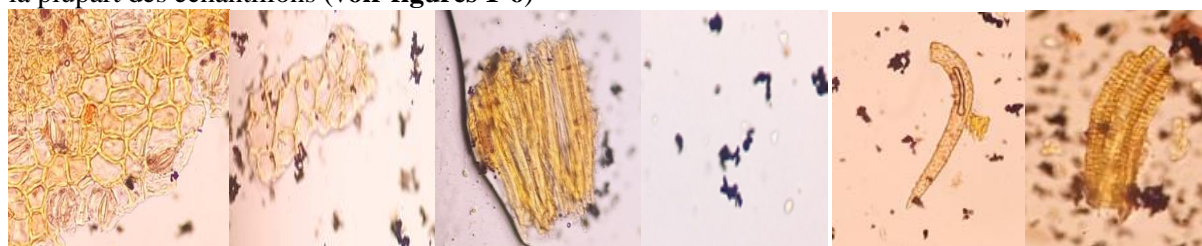
Avec : A : Absorbance moyenne du contrôle négatif,
B : absorbance moyenne de l'échantillon

Les courbes obtenues à partir des pourcentages d'inhibition ont permis de déduire les concentrations d'extraits ou d'acide gallique produisant 50 % de réduction du radical DPPH noté CI₅₀. Les résultats ont été analysés en utilisant le logiciel Graph Pad Prism.

3. Résultats et discussion

3.1 Caractères microscopiques

Les fibres étaient présentes dans tous les échantillons étudiés. Les poils tecteurs et les cristaux d'oxalate calcium ont été également observés dans les différents échantillons exceptés respectivement les écorces de tronc et les feuilles de *P. erinaceus*. La présence des fragments d'épiderme avec stomates a été notée seulement dans les feuilles des deux plantes. Les xylèmes et les grains d'amidon qui constituent respectivement des conduits de sève et des réserves glucidiques dans la plante étaient aussi présents dans la plupart des échantillons (voir figures 1-6)

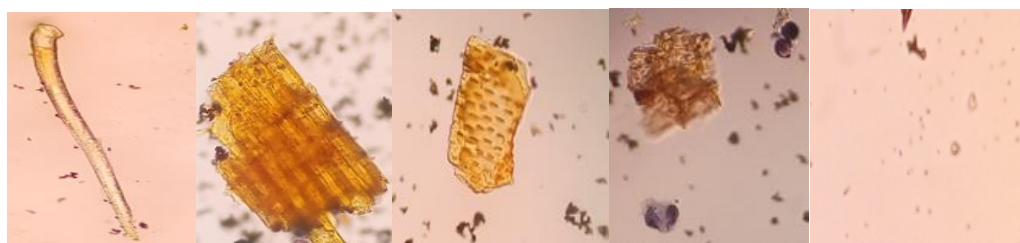


Fragment d'épiderme avec stomates Fragment d'épiderme sans stomate Fibres Cristaux d'oxalate de calcium Poils tecteurs unicellulaires Xylème spiralé



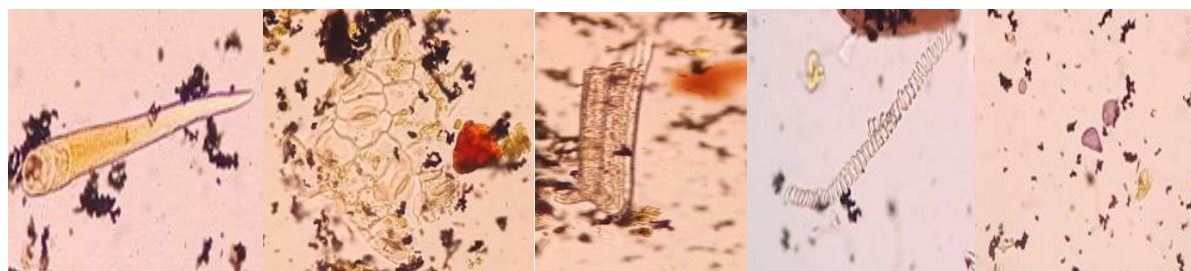
Fibres Parenchyme Poils tecteurs unicellulaires Cristaux d'oxalate de calcium Grains d'amidon

Figure 2 : éléments microscopiques des écorces

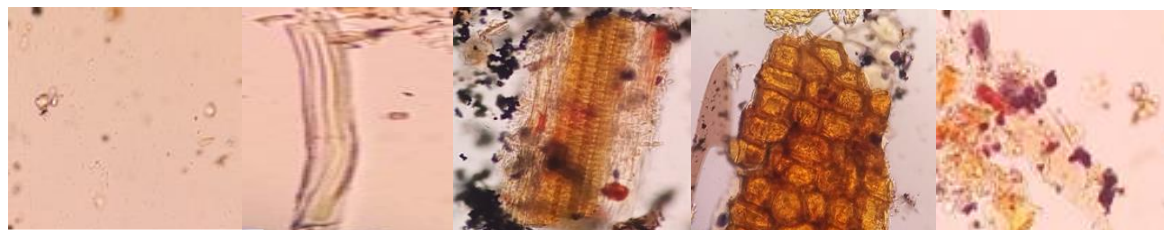


Poil tecteur unicellulaire Fibres Xylème ponctué Grains d'amidon Cristaux d'oxalate de calcium

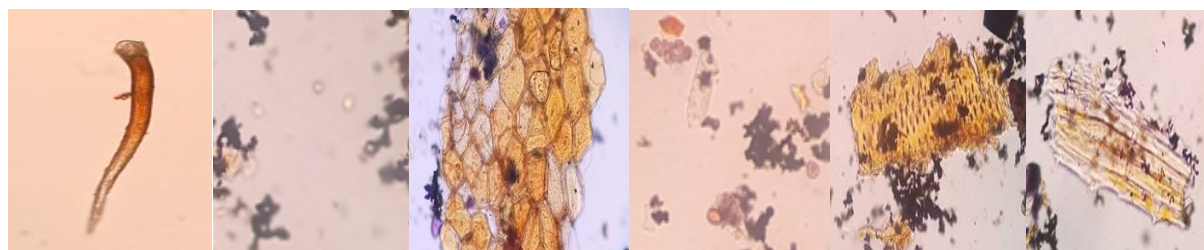
Figure 3



Poil tecteur unicellulaire
 Fragment d'épiderme avec stomates
 Fibrilles de Pterocarpus
 Xylème spiralé
 Grains d'amidon



Cristaux d'oxalate de calcium
 Fibrilles des
 Xylème spiralé
 Parenchyme
 Grains d'amidon



Poil tecteur unicellulaire
 Cristaux d'oxalate de calcium
 Parenchyme
 Grains d'amidon
 Xylème ponctué
 Fibrilles

3.1. Rendements des extraits

Les rendements les plus élevés ont été obtenus avec les décoctés des écorces tronc des deux plantes (*P. erinaceus* et *A. laxiflora*) et des racines de *P. erinaceus* avec respectivement 16,25 ; 15,50 et 14,50 %. Avec respectivement 7,50 et 8,92 %, le décoté des feuilles de *A. laxiflora* et l'extrait éthanolique des feuilles de *P. erinaceus* ont présenté les rendements les plus faibles (voir tableau I). Dans l'ensemble, les rendements des différents extraits montrent que l'eau extrait plus de substances des deux plantes que l'éthanol.

Tableau I : Rendements des différents extraits

Extrait	AL feuille		AL éc tr		AL racine		PE feuille		PE éc tr		PE racine	
	Eau	EtOH	Eau	EtOH	Eau	EtOH	Eau	EtOH	Eau	EtOH	Eau	EtOH
Rendement (%)	8,92	9	15,50	13,63	12,7	9,75	10	7,50	16,25	11,6	14,50	12,86

Eau : décocté ; EtOH : extrait éthanolique ; éc tr : écorce de tronc, AL : *Afrormosia laxiflora* ; PE : *Pterocarpus erinaceus*

3.2. Constituants chimiques

Les groupes chimiques mis en évidence dans les différents organes des deux plantes sont représentés dans le tableau II. Tous les échantillons ont montré la présence des anthracénosides, des mucilages, des saponosides et des tanins. A l'inverse, les alcaloïdes et les composés réducteurs ont donné des réactions négatives dans tous les organes. Les coumarines et les stérols et triterpènes étaient absents seulement dans les feuilles des *P. erinaceus*. L'absence des flavonoïdes était notée dans tous les organes de *A. laxiflora*.

- Les résultats obtenus avec *A. laxiflora* sont semblables à ceux de Chechet et al. (2018) [10] par la présence de saponosides, d’anthracénosides et de tanins mais différent par l’absence d’alcaloïdes, de flavonoïdes et par la présence de stérols et triterpènes. L’absence des alcaloïdes et des flavonoïdes dans les écorces de tronc est également en contradiction avec les résultats obtenus par Doukourou et al. (2021) [11].
- Les données obtenues avec *P. erinaceus* sont un peu différentes de celles de Ajayi et al. (2017) [12] qui ont mis en évidence la présence d’alcaloïdes, de saponines, de tanins et de flavonoïdes mais n’ont pas trouvé d’anthraquinones dans les feuilles. Cependant, elles sont semblables à celles obtenues par Atchou et al. (2020) [13] qui ont également trouvé des saponosides, des flavonoïdes, des terpènes et des tanins dans les écorces de tronc. Ouédraogo et al. (2012) [14] avaient trouvés des flavonoïdes, des tanins, des triterpènes/stéroïdes et des saponosides dans les écorces de racines. Ils ont également retrouvé ces mêmes éléments dans les feuilles à l’exception des saponosides.

Tableau II : groupes chimiques présents dans les différents échantillons

Recherches	PE Fe	PE Et	PE Ra	AL Fe	AL Et	AL Ra
Alcaloïdes	-	-	-	-	-	-
Anthocyanes	-	-	-	-	-	-
Anthracénosides	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Composés réducteurs	-	-	-	-	-	+
Coumarines	-	+++	++	++	++	+++
Flavonoïdes	++	+++	++	-	-	-
Mucilages	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Oses et Holosides	-	+++	-	++	+++	++
Saponosides	++	+	++	+	++	++
Stérols et triterpènes	-	+++	+	+++	++	+
Tanins	+++	+++	+++	+++	+++	+++

PE : *Pterocarpus erinaceus* ; AL : *Afrormosia laxiflora* ; Fe : feuille ; Et : écorce de tronc ; Ra : racine

3.3. Constituants antiradicalaires

○ Constituants antiradicalaires sur plaque CCM

Les extraits ont montré plusieurs taches jaunes sur plaque CCM. Cela témoigne leur richesse en constituants antiradicalaires. Tous les extraits ont montré la présence de taches antiradicalaires mais les extraits les plus riches en constituants antiradicalaires étaient deux décoctés (feuilles de *A. laxiflora* et écorces de tronc de *P. erinaceus*) et quatre extraits éthanoliques (écorce de tronc des deux plantes, racine de *A. laxiflora* et feuille de *P. erinaceus*) comme le montre la figure 7.

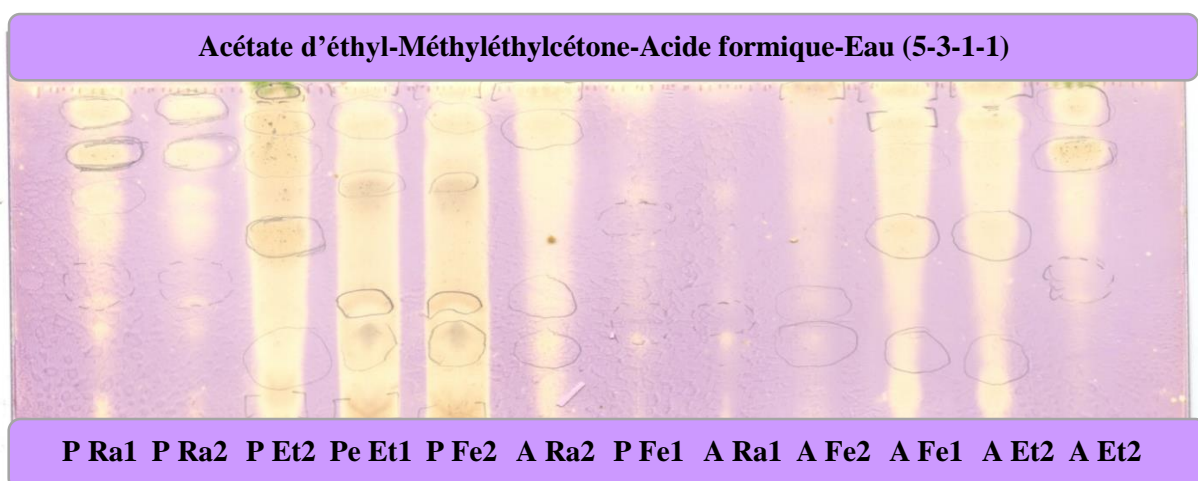


Figure 7 : Constituants antiradicalaires sur plaque CCM

P : *Pterocarpus erinaceus*, **A** : *Afrormosia laxiflora*, **Ra** : racine, **Et** : écorce de tronc, **Fe** : feuille, **1** : décocté, **2** : extraits éthanolique

○ Concentration inhibitrice 50 (CI₅₀)

Les décoctés des écorces de tronc de *P. erinaceus* et des feuilles de *A. laxiflora* ont été les plus efficaces avec respectivement comme CI₅₀ 1,65 et 2,71 µg/ml. L’extrait le moins actif était l’extrait éthanolique

des racines de *A. laxiflora* (23,98 µg/ml). L'acide gallique utilisé comme référence a présenté une CI₅₀ de 1,33 µg/ml (voir tableau II).

D'autres études avaient également démontré l'activité antiradicalaire de ces deux plantes. En 2019, Muhammad et al [15] ont rapporté que les extraits éthanoliques des racines de *A. laxiflora* inhibent le radical DPPH ainsi que d'autres radicaux libres (OH et ON). Atchou et al. (2020) [13] ont démontré l'activité antiradicalaire des écorces de tronc de *P. erinaceus* par la méthode de réduction du radical DPPH et par le ferric reducing antioxydant power (FRAP). Une étude réalisée par Ouédraogo et al., 2017 [15] montre l'efficacité des écorces de racine sur le radical DPPH. Des études ont également démontré l'effet inhibiteur des feuilles et de la tige sur les radicaux DPPH et ABTS [acide 2,2' azobis-(3-éthylbonzothiazoline-6-sulfonique)] [16, 17].

Tableau III : concentration inhibitrice 50 des extraits les plus riches en constituant antiradicalaires

Extrait	CI ₅₀ (µg/ml)
Racine de <i>A. laxiflora</i> EtOH	23,98
Ec.tr de de <i>A. laxiflora</i> EtOH	15,11
Ec.tr <i>P. erinaceus</i> EtOH	8,08
Feuille de <i>A. laxiflora</i> décocté	2,71
Feuille de <i>P. erinaceus</i> EtOH	3,95
Ec.tr de <i>P. erinaceus</i> décocté	1,65
Acide gallique	1,33

Ec.tr : écorce de tronc, EtOH : extrait éthanolique

4. Conclusion

Les troubles de la ménopause étant principalement dus au vieillissement des cellules, l'activité antiradicalaire des extraits des deux plantes pourraient être bénéfique dans leur prise en charge.

5. Références bibliographiques

- [1]. Delamare, G. Dictionnaire illustré des termes de médecine. 32^{ème} édition, Maloine, (2017), 1094p
- [2]. Kouame, A. G., Koffi, Y. M. et Bakayoko, A. Niveau de Connaissance de la ménopause et habitudes alimentaire et médicinale des Femmes en Côte d'Ivoire. *European Scientific Journal*, (2018), 14(18) 442-463
- [3]. Plu-Bureau, G., and C. Mounier-Vehier. "Traitement hormonal de ménopause et risque cardiovasculaire. RPC Les femmes ménopausées du CNGOF et du GEMVi." *Gynécologie Obstétrique Fertilité & Sénologie*, (2021), 49.5: 438-447
- [4]. Fournier, A., Hill, C. A., and Clavel-Chapelon, F. "Hormone replacement therapy in menopause and risk of breast cancer." *Bulletin du cancer* (2003), 90.10: 821-31
- [4]. Vergne, S., & Sauvart, P. Les isoflavones de soja dans le traitement de la ménopause. *Phytothérapie*, (2006), 4(4), 172-180
- [5]. Organisation de l'unité africaine/commission scientifique, technique et de la recherche (OUA/CSTR). Pharmacopée africaine. Méthodes générales d'analyse. Première édition, Lagos, (1986), 2 (3) : 241p
- [6]. Blois, M. S. Déterminations antioxydantes par l'utilisation des radicaux libres stables. *Nature*, (1958), 181 (4617), 1199-1200
- [7]. Jazy, M. A., Haïdara, M., & Sanogo, R. Chromatographie sur couche mince et activité antiradicalaire d'extraits de *Pupalia Lappacea* (L.) Juss. Amaranthaceae. *European Scientific Journal*, (2018), 14(3) : 140-155
- [8]. Velázquez, E., Tournier, H. A., De Buschiazzo, P. M., Saavedra, G., & Schinella, G. R. Antioxidant activity of Paraguayan plant extracts. *Fitoterapia*, (2003), 74(1-2), 91-97.
- [9]. Chechet, G. D., Yahaya, J., and Nok, A. J. *In vitro* and *in vivo* Anti-trypanosomal Potentials of *Afrormosia laxiflora* and *Khaya senegalensis* against *Trypanosoma brucei brucei*. *Nigerian Veterinary Journal*, (2018), 39 (3): 269-284
- [10]. Doukourou, D. N., kamou, R., Bamba, B., & Ouattara, K. Phytochemical screening, mineral analysis and evaluation of the diuretic effect of aqueous extract of *Pericopsis laxiflora* from male Sprague Dawley rats. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, (2021), 11(4-S), 54-58
- [11]. Ajayi, V. F., Uguru, M. O., Suleiman, D., & Ajayi, A. D. Antidiabetic effect of methalonic leaf extract of *pterocarpus erinaceus* in streptozotocin induced diabetic rats. *Scientific Research Journal*, (2017), 5(3), 1-6
- [12]. Atchou, K., Lawson-Evi, P., Metowogo, K., Eklou-Gadegbeku, K., Aklikokou, K., & Gbeassor, M. Hypoglycemic effect and antioxidant potential of *Pterocarpus erinaceus* Poir. stem bark and *Amaranthus spinosus* L. roots extracts. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, (2020), 12(3), 340-350

- [13]. Ouedraogo, N., Lompo, M., Sawadogo, R. W., Tibiri, A., Hay, A. E., Koudou, J., ... & Guissou, I. P. Étude des activités anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique des décoctés aqueux des feuilles et des racines de *Pterocarpus erinaceus* Poir.(Fabaceae). *Phytothérapie*, (2012), 10(5), 286-292
- [14]. Muhammad, B. Y., R. M. Adamu, and M. O. Enemali. "Anti-oxidant, Anti-inflammatory, Anti-proliferative and Anti-microbial activities (In vitro) of *Indigofera hirsuta* and *Afrormosia laxiflora*." (2019). *Saudi Journal of Medical and Pharmaceutical Sciences*, (2017), 5(11): 923-930
- [15]. Ouédraogo, N., Hay, A. E., Ouédraogo, J. C. W., Sawadogo, W. R., Tibiri, A., Lompo, M., ... & Guissou, I. P. Biological and phytochemical investigations of extracts from *Pterocarpus erinaceus* Poir (Fabaceae) root barks. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, (2017), 14(1), 187-195
- [16]. Karou, D., Dicko., M. H., Simporé, J and Traoré, A. S. Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso. *African Journal of Biotechnology*, (2005), 4 (8), 823-828
- [17]. Madaki, F. M., Kabiru, A. Y., Hamzah, R. U., Aina, P. A., & Prince, O. Antioxidant properties of *Hymenocardia acida* stem bark, *Crateva adansonii* and *Pterocarpus erinaceus* leaves. *International Journal of Applied Biological Research*, (2020), 11(1): 53- 65

Composés phénoliques et activité antioxydante des extraits de *Eucalyptus camaldulensis* et *Hyptis suaveolens*, deux plantes médicinales acclimatées au Burkina Faso



MAIGA Idrissa², OUATTARA Lamoussa Paul¹, BATIONO K. Rémy¹, BAZIE B. Valérie¹, ZONGO Cheickna², NEBIE C. H. Roger¹

¹Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique/Institut de Recherche en Sciences Appliquées et Technologies / (CNRST/IRSAT), Département Substances Naturelles ; 03 BP 7047 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

²Laboratoire de Biochimie et Immunologie Appliqué (LABIA), UFR/SVT, Université de Ouagadougou, 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso.



INTRODUCTION

L'objectif de cette étude était de contribuer à une meilleure connaissance de la flore médicinale du Burkina Faso par l'évaluation du potentiel antioxydant des extraits de *Eucalyptus camaldulensis* et *Hyptis suaveolens*.

En effet, Les radicaux libres sont des espèces chimiques fortement réactives et potentiellement préjudiciables. Ils sont impliqués dans l'étiologie de diverses maladies chroniques humaines qui sont considérées comme des problèmes de santé publique (Pajares *et al.*, 2018). Ainsi, la recherche de substances naturelles à activité antioxydante issues de plantes constitue donc un enjeu d'intérêt scientifique majeur.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Matériel végétal



Eucalyptus camaldulensis Dehn



Hyptis suaveolens (L.) Poit.

Screening phytochimique et test biologique

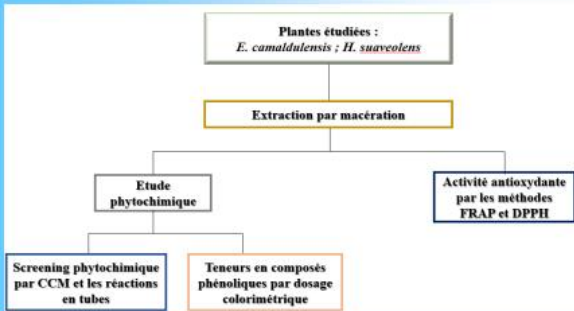


Fig 1 : résumé schématique de la procédure expérimentale.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Phytochimie des extraits

Tableau I : screening phytochimique de quelques groupes chimiques des extraits.

Plantes étudiées	Solvant	Groupes chimiques recherchés				
		Tanins	Flavonoïdes	Alcaloïdes	Terpènes et stéroïdes	Saponosides
<i>E. camaldulensis</i>	DCM	-	+	-	+	-
	MeOH	+	+	-	-	+
<i>H. suaveolens</i>	DCM	-	+	-	+	-
	MeOH	+	+	-	-	+

+ : présence du groupe chimique - : absence du groupe chimique

MeOH : méthanol ; DCM : dichlorométhane.

Teneurs en composés phénoliques des extraits

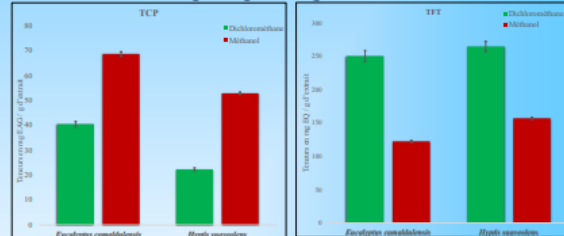


Fig 2 : teneurs en polyphénols.

Fig 3 : teneurs en flavonoïdes totaux.

Activité antioxydante des extraits

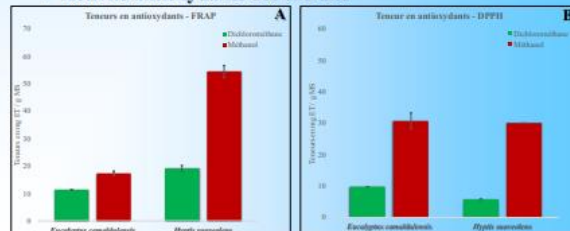


Fig 4 : teneurs en antioxydants par les méthodes FRAP (A) et DPPH (B)

L'analyse de la teneur en antioxydants des extraits a montré que les extraits au MeOH ont présenté les teneurs les plus élevées. Cette activité pourrait être liée à leur richesse de ces extraits en composés phénoliques (Chandra-Mohan *et al.*, 2005). En outre, le screening phytochimique des extraits a révélé la présence de tanins et de flavonoïdes, qui sont des composés chimiques doués de propriétés antioxydantes, dans les extraits au MeOH. La présence de ces deux groupes chimiques, généralement solubles dans les solvants polaires (Marston et Hostettmann, 2006), pourrait justifier cette propriété antioxydante des extraits.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'évaluation de la teneur en antioxydants des extraits au MeOH et au DCM a montré que les plantes étudiées possèdent une activité antioxydante qui varie d'une espèce à une autre en fonction du test utilisé. Ces plantes constituent une source potentielle d'antioxydants naturels. En perspectives, il serait intéressant d'isoler et d'élucider la structure des composés responsables de l'activité antioxydante.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

CHANDRA MOHAN K. V. P., HARA Y., ABRAHAM S. K., NAGINI S., 2005. Comparative evaluation of the chemopreventive efficacy of green and black tea polyphenols in the hamster buccal pouch carcinogenesis model. *Clinical Biochemistry*, 38:879 - 886.

MARSTON A., HOSTETTMMANN K., 2006. Flavonoids chemistry, biochemistry and applications. 1^{re} Edition, *Taylor and Francis Group*, 1256 p.

PAJARES M., CUADRADO A., ENGEDAL N., JIRSOVA Z., CAHOVA M., 2018. The role of free radicals in autophagy regulation: implications for ageing. *OMCL*, 20 : 1-19.

Activité antioxydante *in vitro* des flavonoïdes de *Flueggea virosa* (wild) Voigt, récolté au Mali

Niaboula Dembele ¹, Aimé Somboro ², Issiaka Togola ², Mamadou Badiaga ¹ Et Nah Traore ²

¹ Institut des Sciences Appliquées, colline de Badalabougou (Bamako, Mali)

² Faculté des Sciences et Techniques, colline de Badalabougou, Bamako BPE3206, Mali
d.niaboula@gmail.com

Résumé

Flueggea virosa (Roxb. ex Wild) Voigt, appartenant à la famille des *Euphorbiaceae*, est une plante commune en Afrique et en Chine avec de nombreuses vertus médicinales. Les flavonoïdes étant largement connus pour leur pouvoir antioxydant, dans cette étude, une extraction de flavonoïdes hétérosidiques des feuilles et racines de *Flueggea virosa* récoltées dans deux régions du Mali a été menée, en vue d'évaluer l'activité antioxydante *in vitro*. Ces activités ont été mesurées par trois méthodes : une quantification de l'activité de piégeage du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH), la capacité antioxydante totale (CAT) et le pouvoir réducteur du fer (FRAP). Le meilleur rendement de l'extraction des flavonoïdes a été remarqué avec les feuilles récoltées à Sikasso avec 6,68%. Les essais *in vitro* ont démontré d'intéressantes capacités antioxydantes totales avec 447,8±27,1 mg EAA/g pour les extraits de flavonoïdes des feuilles de *F. virosa* de Sikasso et les feuilles de Sanankoroba ont fourni une CI₅₀ de 10,59±1,60 µg/mL inférieure à celle de l'acide ascorbique utilisé comme référence pour le piégeage du radical DPPH. Ces résultats suggèrent que *F. virosa* possède une forte activité antioxydante *in vitro*. Des études ultérieures devraient s'étendre *in vivo*.

Mots clés : *Flueggea virosa* ; flavonoïdes ; activité antioxydante.

Abstract

Flueggea virosa (Roxb. ex Wild) Voigt, belonging to the *Euphorbiaceae* family, is a common plant in Africa and China with many medicinal properties. Since flavonoids are widely known for their antioxidant power, in this study, an extraction of heteroside flavonoids from the leaves and roots of *Flueggea virosa* harvested in two regions of Mali was carried out, in order to evaluate the antioxidant activity *in vitro*. These activities were measured by three methods: quantification of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) scavenging activity, total antioxidant capacity (TAC) and iron reducing power (FRAP). The best yield of the extraction of flavonoids was noticed in the leaves harvested in Sikasso with 6.68%. *In vitro* assays demonstrated interesting total antioxidant capacities with 447.8±27.1 mg EAA/g for the flavonoid extracts of the leaves of *F. virosa* from Sikasso and the leaves of Sanankoroba provided a CI₅₀ of 10.59±1.60 µg/mL lower than the CI₅₀ of ascorbic acid used as a reference for DPPH radical scavenging. These results suggest that *F. virosa* has strong antioxidant activity *in vitro*. Further studies should extend *in vivo*.

Keywords: *Flueggea virosa*; flavonoids; antioxidant activity

Introduction

Le genre *Flueggea* de la sous-famille des Phyllanthoideae, comprend 16 espèces présentes dans les régions tropicales et subtropicales des deux hémisphères. *Flueggea virosa* est la seule espèce présente en Afrique tropicale. *Flueggea virosa* (Roxb. ex Wild) Voigt, appartient à la famille des *Euphorbiaceae* et très commune en Afrique et en Chine avec de nombreuses vertus médicinales (Chen, Chen et Li 1997; Mugisha et Origa 2005). Toutes les parties de *Flueggea virosa* sont utilisées comme remèdes, en particulier la racine. Différentes parties de la plante auraient de multiples usages folkloriques pour le traitement de nombreuses maladies telles que le diabète, les infections liées au VIH, l'arythmie, la fièvre, le paludisme, l'épilepsie et l'hépatite (Zeonwumelu, *et al.*, 2013). Elle est également utilisée contre les **maladies du foie** (Kpodar *et al.*, 2016) **et le paludisme** (Tugume *et al.*, 2016).

Dans ce travail, une extraction de flavonoïdes hétérosidiques des feuilles et racines de *Flueggea virosa* récoltées dans deux régions du Mali a été menée, en vue d'évaluer l'activité antioxydante *in vitro*.

Plusieurs facteurs peuvent accroître la génération des radicaux libres. Les réactions biochimiques normales du corps, une exposition élevée à l'environnement et des niveaux élevés de xénobiotiques alimentaires entraînent la génération d'espèces réactives de l'oxygène et d'espèces réactives de l'azote (Nimse et Pal, 2015). Les espèces réactives de l'oxygène, en particulier les radicaux libres, ont été reconnus d'avoir une implication dans plusieurs maladies, dont le cancer et athérosclérose. De nos jours, les antioxydants naturels reçoivent de plus en plus d'attention ; les flavonoïdes en particulier.

Les flavonoïdes constituent un grand groupe de composés polyphénoliques, avec une structure benzo- γ -pyrone et sont ubiquitaires dans les plantes (Kumar and Pandey, 2013). Ils agissent comme constituants pharmacologiquement actifs dans de nombreuses plantes médicinales et ont à leur actif de multiples propriétés biologiques, telles que, vasodilatatrices (Duarte *et al.*, 1993), antioxydantes, anticancérigènes, anti-inflammatoires, antibactériennes, propriétés hepato-protectives, effets antiviraux, etc (Tiwari et Hussain, 2017).

Dans ce contexte, une étude de dérivés naturels connus et nouveaux pourraient soutenir le développement de nouveaux médicaments et améliorer le traitement de diverses maladies.

Matériel et méthodes :

Matériel

Les feuilles et les racines de *F. virosa* ont été collectées à Sanankoroba (village de Bougoula) et à Sikasso (village de Tabarako), respectivement en octobre et novembre 2018. Les feuilles ont été identifiées par les botanistes du Département de Médecine traditionnelle de l'Institut National en Santé Publique du Mali où un spécimen de référence a été déposé.

Flueggea virosa=*Securinega virosa* 1356/DMT

Méthodes :

Extraction

Pour extraire les flavonoïdes hétérosidiques, 200g de matière végétale sèche finement broyée des feuilles et racines de *Flueggea virosa* est mélangée avec 1800 mL de solution hydroalcoolique : Méthanol-eau (70-30). Le mélange est porté à reflux pendant 2 heures. L'extrait hydrométhanolique est récupéré par une filtration sous vide et le méthanol est éliminé par une évaporation sous vide. Une extraction liquide-liquide avec l'éther de pétrole est effectuée avec le milieu ne contenant plus que l'eau pour extraire la chlorophylle et les cires. La phase aqueuse subit une autre extraction par le diéthyl éther jusqu'à épuisement, notamment pour extraire les génines libres. Les hétérosides flavonoïdiques sont obtenues par une extraction successive jusqu'à épuisement par l'acétate d'éthyle de la phase aqueuse. La phase aqueuse restante contient les flavonoïdes glycosylés plus polaires. Les extraits obtenus sont dénommés selon le solvant qui a permis leur récupération : extrait d'acétate d'éthyle et extrait aqueux résiduel. Les fractions récupérées sont soumises à une concentration à basse pression à 35°C, ensuite séchées puis pesées pour déterminer les rendements d'extraction exprimés par rapport à 100 g de matière sèche.

Capacité Antioxydante Totale (CAT)

Dans chaque tube, introduire 300 μ L de chaque extrait dissout dans le méthanol et ajouter 3 mL de la solution du réactif (0.6 M d'acide sulfurique, 28 mM de phosphate de sodium et 4 mM de molybdate d'ammonium). Les tubes fermés, sont incubés à 95°C pendant 90 minutes. Le blanc et le témoin, l'acide ascorbique, sont préparés dans les mêmes conditions avec respectivement 300 μ L de méthanol et 3 mL du réactif et 300 μ L de l'extrait méthanolique d'acide ascorbique et 3 mL du réactif. Les extraits, le témoin et le blanc, après refroidissement, sont soumis à la lecture de leurs absorbances à 695 nm.

La Capacité Antioxydante Totale (CAT) est exprimée en milligramme équivalents d'acide ascorbique par gramme de matière sèche (mg EAA/ g MS) (Prieto, 1999).

A 50 μ L de la solution d'extrait méthanolique des extraits de flavonoïdes à différentes concentrations (10, 15, 20, 25, 30 μ g/mL) sont ajoutés 1,95 mL d'une solution méthanolique de DPPH. Le mélange est incubé dans l'obscurité pendant 30 minutes à la température ambiante. L'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 517 nm. Dans les mêmes conditions, un blanc est préparé en mélangeant 50 μ L de méthanol avec 1,95 mL de la solution méthanolique de DPPH (Lopes-Lutz *et al.*, 2008). Une solution méthanolique de l'acide ascorbique est utilisé comme le témoin. Les essais sont repris trois fois, afin de s'assurer de la fiabilité des résultats.

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition (I%) qui permet de déterminer les IC50.

Le calcul du pourcentage d'inhibition :

$$\%I = ((\text{Abs blanc} - \text{Abs échantillon}) / \text{Abs Ablanc}) \times 100$$

Abs blanc: Absorbance du blanc

Abs échantillon: Absorbance de l'échantillon.

- **Test FRAP (Ferric Reducing-Antioxidant Power)**

Le dosage du pouvoir réducteur des extraits méthanoliques des flavonoïdes hétérosidiques (AcOEt et H₂O) des différents organes de *D. microcarpum* et de *F. virosa* a été réalisé par la méthode de (Iqbal, Sivaraj et Gunasekaran, 2017) avec quelques modifications.

A 1mL de l'extrait de l'échantillon, ajouter 1 mL de tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 1 mL de solution à 1% de ferricyanure de potassium ou hexacyanoferrate (III) de potassium (K₃Fe(CN)₆). Le mélange est incubé à 50 °C pendant 20 minutes. 1 mL d'acide trichloracétique à 10 % est ajouté au mélange. Les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10 min.

A un aliquote de 1 mL de surnageant, nous ajoutons 1mL d'eau distillée et 0,2 mL d'une solution aqueuse de FeCl₃ (Chlorure ferrique) à 0.1%. Le blanc est préparé dans les mêmes conditions, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée (Bougandourara et BENDIMERAD, 2012). L'acide ascorbique est utilisé comme standard. L'absorbance est mesurée à 700 nm pour déterminer la quantité de formation de ferrocyanure ferrique (bleu de Prusse). Une augmentation de l'absorbance du mélange réactionnel est proportionnelle à une augmentation de la réduction du ferricyanure (Iqbal, Sivaraj et Gunasekaran, 2017)

L'activité antioxydante liée au pouvoir réducteur des extraits est exprimée en pouvoir réducteur (PR %) selon la formule suivante (Togola *et al.*, 2019):

$$PR = \frac{Aa - Ab}{Aa} \times 100$$

Où Aa : est l'absorbance de l'extrait

et Ab : est l'absorbance du blanc

Les résultats obtenus lors des tests de l'activité anti-oxydante ont été traités avec le logiciel d'analyse statistique ANOVA.

Résultats et discussion

Les données du tableau 1 montrent que le meilleur rendement est obtenu avec les extraits des feuilles du *Flueggea virosa*. L'extrait qui renferme la teneur la plus élevée en flavonoïdes hétérosidiques est celui des feuilles du site de récolte de Sikasso, suivi du site de Sanankoroba. Les teneurs relativement faibles se retrouvent avec les extraits de racine comparativement aux feuilles avec des taux de 2,24% et 1,53% respectivement pour les racines issues de Sikasso et de Sanankoroba.

Tableau 1 : Récapitulatif de la masse et du rendement des flavonoïdes hétérosidiques extraits de *Flueggea virosa*

Sites	Poids matériel végétal (g)		Flavonoïdes hétérosidiques (g)		Rendement (%)	
	Feuilles	Racine	Feuilles	Racine	Feuilles	Racine
Sikasso	200	200	13,35	4,48	6,68	2,24
Sanankoroba	200	200	12	3,06	6	1,53

La méthode de la Capacité Antioxydante Totale CAT détermine la quantité des espèces antioxydantes existantes dans les extraits de flavonoïdes hétérosidiques. La Capacité Antioxydante Totale des extraits de flavonoïdes hétérosidiques (phase d'acétate d'éthyle et la phase aqueuse résiduelle) des organes de *Flueggea Virosa* est exprimée en équivalents d'acide ascorbique. Pour la courbe d'étalonnage, l'acide ascorbique est utilisé comme étalon. (Figure 1).

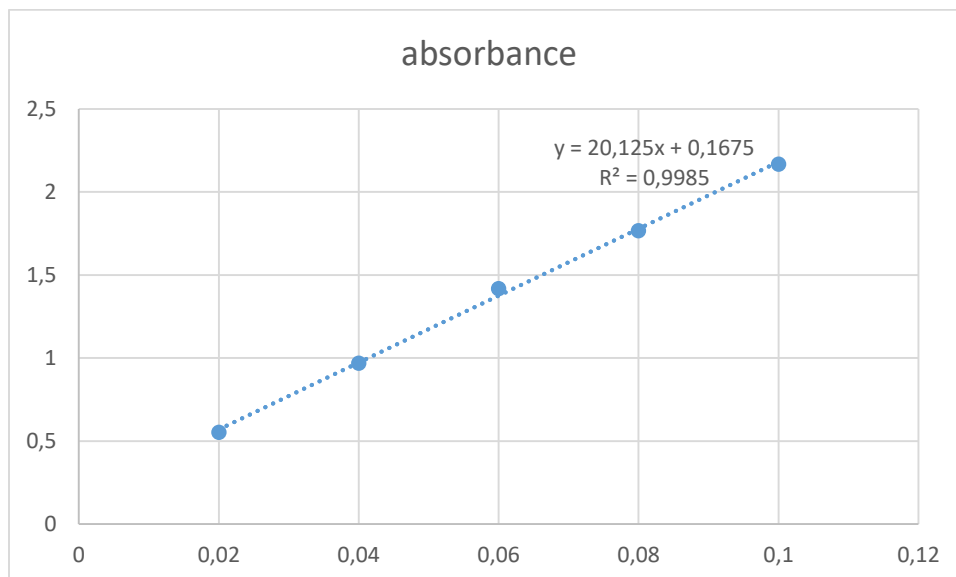


Figure 1 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour la CAT

L'équation de la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique $y = 20,125x + 0,1675$ et le coefficient de corrélation $R^2 = 0,9985$ permet de déterminer :

- La concentration des espèces antioxydantes exprimée en mg/ml ;
- La concentration des espèces antioxydantes exprimée en mg Equivalent Acide -Ascorbique par g de matière sèche: $C \text{ mg EAA/ g MS} = C \text{ mg EAA/ g MS} = \frac{A \cdot V_i \cdot F}{MS}$
- $C \text{ mg / mL. V mL. F / MS g}$;
- $C \text{ (mg/mL)}$: Concentration ;
- A : absorbance;
- $V_i \text{ (mL)}$: volume initial;
- F : facteur de dilution;
- $MS \text{ (g)}$: matière sèche.

Les résultats de la capacité anti-oxydante sont regroupés dans les tableaux suivants : CAT mg EAA/ml ($C \text{ mg/ml}$) CAT mg EAA/g MS ($C \text{ mg/g}$)

Tableau 2 : CAT - Capacité anti oxydante totale des flavonoïdes hétérosidiques extraits des feuilles et des racines de *Flueggea virosa*-Phase d'acétate d'éthyle

Extrait	CAT mg EAA/g
Feuilles Sikasso	447,8±27,1
Feuilles Sanankoroba	419,4±23,1
Racine Sikasso	309,97±10,68
Racine Sanankoroba	216,5±33,2

Tableau 3 : CAT - Capacité anti oxydante totale des flavonoïdes (Phase aqueuse résiduelle) extraits des feuilles et des racines de *Flueggea virosa*

Extrait	CAT mg EAA/g
Feuilles Sikasso	123,00±10,75
Feuilles Sanankoroba	161,92±11,01
Racine Sikasso	227,7±42,8
Racine Sanankoroba	117,1±24,4

Les résultats obtenus lors du dosage des différents extraits capables de piéger 50% de radicaux libres DPPH sont consignés dans les tableaux 4 et 5. Les valeurs de des IC50 obtenues sont en µg/mL. L'acide ascorbique est la molécule utilisée comme référence.

Tableau 4 : Concentration inhibitrice de 50% des radicaux DPPH des flavonoïdes hétérosidiques (phase acétate d'éthyle) extraits des feuilles et des racines de *Flueggea virosa*

Extrait / Témoin	IC50 (µg/mL)
Acide ascorbique	16,51±0,71
Feuilles Sikasso	19,11±1,49
Feuilles Sanankoroba	10,59±1,60
Racine Sikasso	32,75±0,31
Racine Sanankoroba	28,58±0,58

Tableau 5 : Concentration inhibitrice de 50% des radicaux DPPH des flavonoïdes hétérosidiques (phase aqueuse résiduelle) extraits des feuilles et des racines de *Flueggea Virosa*

Extrait / Témoin	IC50 (µg/mL)
Acide ascorbique	16,51±0,71
Feuilles Sikasso	18,09±1,50
Feuilles Sanankoroba	15,52±3,41
Racine Sikasso	24,38±1,03
Racine Sanankoroba	18,11±1,22

Les résultats de la capacité réductrice des extraits d'acétate d'éthyle et de la phase aqueuse résiduelle des flavonoïdes hétérosodiques des feuilles et racines de *Flueggea virosa* sont marqués dans les tableaux 6, 7, 8 et 9. Ces résultats ont été estimés à partir de leur capacité à réduire la 2,4,6-tripyridyl-s-triazine(TPTZ)-Fe (III) complexe à TPTZ-Fe (II).

Tableau 6 : FRAP – Pouvoir réducteur des flavonoïdes hétérosidiques (phase acétate d'éthyle) extraits des feuilles de *Flueggea virosa*

Concentration (µg/mL)	Pouvoir réducteur		
	Sanankoroba	Sikasso	Standard
20	37,23±0,76	50,11±2,40	61,34±3,60
40	51,38±4,86	63,48±0,57	81,57±0,53
60	75,82±1,98	76,58±0,52	84,28±0,88
80	78,48±1,22	79,51±1,37	87,45±0,98
100	83,92±1,02	84,02±0,73	90,85±0,17

Tableau 7 : FRAP – Pouvoir réducteur des flavonoïdes hétérosidiques (phase acétate d'éthyle) extraits des racines de *Flueggea virosa*

Concentration (µg/mL)	Pouvoir réducteur		
	Sanankoroba	Sikasso	Standard
20	21,51±1,60	28,42±3,10	61,34±3,60
40	38,17±2,52	44,51±7,66	81,57±0,53
60	49,22±2,71	66,04±1,24	84,28±0,88
80	61,88±4,15	70,56±0,10	87,45±0,98
100	69,28±1,15	73,16±0,92	90,85±0,17

Tableau 8 : FRAP – Pouvoir réducteur des flavonoïdes hétérosidiques (phase aqueuse résiduelle) extraits des feuilles de *Flueggea virosa*

Concentration (µg/mL)	Pouvoir réducteur		
	Sanankoroba	Sikasso	Standard
20	25,25±1,80	50,11±4,55	61,34±3,60
40	33,48±0,94	63,48±2,99	81,57±0,53
60	38,38±0,46	76,58±0,27	84,28±0,88
80	57,26±0,72	79,51±4,58	87,45±0,98
100	68,74±1,06	84,02±0,40	90,85±0,17

Tableau 9 : FRAP – Pouvoir réducteur des flavonoïdes hétérosidiques (phase aqueuse résiduelle) extraits des racines de *Flueggea virosa*

Concentration (µg/mL)	Pouvoir réducteur		
	Sanankoroba	Sikasso	Standard
20	17,15±0,63	29,01±3,50	61,34±3,60
40	23,36±0,72	40,18±4,60	81,57±0,53
60	37,63±1,11	65,81±1,59	84,28±0,88
80	51,02±1,52	70,56±2,50	87,45±0,98
100	57,78±1,06	73,16±0,92	90,85±0,17

Analyses et discussions

Au cours de cette étude, les flavonoïdes hétérosidiques ont été extraits des feuilles et des racines de *Flueggea virosa*, récolté dans deux différentes régions du Mali. Le contenu des flavonoïdes totaux des différents organes de *F. virosa* est exprimé en gramme (g).

Nous observons une différence remarquable entre les taux de flavonoïdes extraits au niveau des feuilles et ceux extraits des racines. L'explication probable à cette différence pourrait être que les parties aériennes de *F. virosa* représentent l'endroit favorable pour la synthèse des flavonoïdes hétérosidiques. Les flavonoïdes obtenus à partir des plantes sont connus pour être de bonne source d'antioxydants (Lotio et Frei, 2003) la quantité élevée des extraits flavonoïdes totaux dans l'acétate d'éthyle suggère que l'extrait possède sûrement une activité antioxydante *in vitro*. La phase aqueuse résiduelle obtenue à la fin de l'extraction des flavonoïdes hétérosidiques est également examinée pour son activité antioxydante en vue de s'assurer également de la présence en son sein de flavonoïdes. Les flavonoïdes sont des constituants très importants des plantes en raison de leur capacité de piégeage de radicaux libres conférée aux groupes hydroxyles. De ce fait, les flavonoïdes peuvent contribuer directement à l'action anti-oxydante (Sun *et al.* 2011).

L'intérêt de l'évaluation du potentiel antioxydant vient du fait que les plantes dotées de pouvoir antioxydant pourraient être un traitement alternatif du stress oxydatif et de ce fait prévenir un nombre pléthorique de maladies.

Cette étude reporte en plus, les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits d'acétate d'éthyle de flavonoïdes hétérosodiques totaux et des phases aqueuses résiduelles par les méthodes de quantification de l'activité de piégeage du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH), la capacité antioxydante totale (CAT) et le pouvoir réducteur du fer (FRAP).

Au vu des résultats obtenus, l'étude de la Capacité Antioxydante Totale (CAT) des extraits flavonoïdiques de la phase AcOEt des feuilles et racines de *F. virosa* démontre une grande richesse en substance antioxydante par rapport aux extraits de la phase aqueuse résiduelle. Ce sont les extraits de flavonoïdes hétérosidiques des feuilles qui ont les plus grandes valeurs, dont respectivement 447,8±27,1 mg EAA/g MS et 419,4±23,1 mg EAA/g MS pour les sites de récolte de Sikasso et de Sanankoroba.

La capacité antioxydante assez élevée des extraits de flavonoïdes dans la phase AcOEt par rapport à la phase aqueuse résiduelle pourrait être due à la différence de variété des sous-classes de flavonoïdes dans les deux phases. L'activité antioxydante est dépendante du nombre de groupements hydroxyles portés par le

composé de base à savoir entre 3 à 6 groupements. L'hydroxylation en position C3 semble être au détriment du potentiel oxydant des flavonoïdes (Huguet, Máñez et Alcaraz, 1990).

Les résultats du potentiel des extraits de flavonoïdes de *Flueggea virosa* à piéger le radical DPPH sont consignés dans les tableaux 4 et 5. Les CI50 des extraits de flavonoïdes hétérosidiques des feuilles et racines de *Flueggea virosa* récoltées à Sikasso et Sanankoroba sont comprises entre $10,59 \pm 1,60$ $\mu\text{g/mL}$ et $32,75 \pm 0,31$ $\mu\text{g/mL}$. La plus faible CI50 est celle de la phase d'acétate d'éthyle des feuilles récoltées à Sanankoroba. La CI50 la plus élevée est de la même phase mais des racines récoltées à Sikasso. Une activité de piégeage des radicaux DPPH plus élevée est associée à une valeur de CI50 plus faible.

Nous nous apercevons que les différentes phases des extraits flavonoïdiques issus des feuilles de *F. virosa* du site de récolte de Sanankoroba, ont des CI50 de $10,59 \pm 1,60$ $\mu\text{g/mL}$ et $15,52 \pm 3,41$ $\mu\text{g/mL}$, nettement inférieurs à celui obtenu avec l'acide ascorbique ($16,51 \pm 0,71$ $\mu\text{g/mL}$). Pour nous assurer de la constance de nos résultats, ces tests ont été refaits au-delà des 3 essais de base.

Dans ce test, la bonne activité antioxydante des extraits de flavonoïdes totaux de *F. virosa* sur le radical DPPH peut être attribuée à un rôle dans le piégeage des radicaux libres en donnant un atome d'hydrogène. En général les flavonoïdes sont sous forme de dérivés hydroxylés, méthoxylés et/ou glycosylés. Le sucre lié est souvent du glucose ou du rhamnose. Le nombre de sucre est généralement un, mais il peut y en avoir deux ou trois et il y existe plusieurs positions de substitutions. La glycosylation influence les propriétés chimiques, physiques et biologiques des flavonoïdes (Rice-Evans, 2001). Comme la glycosylation des flavonoïdes réduit leurs capacités de piéger les radicaux libres (Ramassamy, 2006) alors ceci est sûrement la raison pour laquelle les racines ont des CI50 plus élevées (certainement pauvre en flavonoïdes hétérosidiques). En se basant sur cette hypothèse, nous pouvons dire que les feuilles de *F. virosa* récoltées à Sanankoroba semblent être riche en flavonoïdes non glycosylés. D'autres études nous permettront de confirmer ou d'infirmer cela.

Le pouvoir réducteur est un mécanisme d'action des antioxydants et peut servir d'indicateur significatif d'une activité antioxydante potentielle. Dans la présente étude, les extraits de flavonoïdes hétérosodiques ont montré un bon pouvoir réducteur en utilisant comme molécule de référence l'acide ascorbique. Les données suggèrent que les flavonoïdes hétérosodiques des extraits d'acétate d'éthyle contenus dans les feuilles de *F. virosa* ont une bonne capacité à donner des électrons aux radicaux libres réactifs, en les transformant en produits plus stables et en mettant ainsi fin à la réaction en chaîne de production de radicaux libres. Que ce soit de la phase aqueuse résiduelle ou de la phase d'acétate d'éthyle, les flavonoïdes extraits des feuilles de *F. virosa* semblent avoir plus de pouvoir réducteur que ceux des racines. Le fait que les extraits de flavonoïdes des racines soient moins dotés d'activités antioxydantes que les parties aériennes pourrait être expliqué par la faible concentration en flavonoïdes dans les parties souterraines. Les flavonoïdes font partie des molécules qui absorbent la lumière de longueur d'onde comprise entre 220-380 nm et sont présents dans les cellules les plus externes des feuilles afin de réduire la pénétration des rayonnements. L'intensité du rayonnement UV pouvant varier, notamment avec l'altitude, les plantes s'adaptent en accumulant plus ou moins de flavonoïdes dans leurs feuilles (Cuadra, Harborne et Waterman 1997).

Les flavonoïdes sont une classe de composés polyphénoliques ayant un fort pouvoir réducteur (Wang *et al.*, 2021). Comparés à d'autres composés phytochimiques, les flavonoïdes ont un haut habilité dans la chélation du fer. Cependant, dans leur diversité structurale, certains ont plus de capacité de chélation que d'autre. Des sites de liaison avec le fer sont privilégiés. Des études ont montré que les flavonoïdes avaient une variété de sites de liaison du fer comme les positions 6, 7-dihydroxy, le cycle B dans la structure du catéchol et la double liaison en position 2, 3. Le groupement 3-OH peut également jouer le rôle de chélateur (Van Acker *et al.*, 1996).

Sur la base des données obtenues à partir de cette étude et celles obtenues par Sanogo *et al.* (2009) nous pouvons dire que les effets biologiques de *F. virosa* observé à partir des études ethnopharmacologiques sont dus en partie à l'action antioxydante de ses composants actifs.

Conclusion

La présente étude a conclu que les feuilles de *F. virosa* possèdent d'intéressantes quantités de flavonoïdes hétérosidiques par rapport aux racines. L'étude de l'activité antioxydante de ces extraits selon la méthode de la réduction du fer, celle du piégeage du libre radical DPPH• et de la capacité antioxydante totale a montré que les différents extraits sont dotés d'une bonne activité antioxydante *in vitro*. Des études ultérieures devraient s'étendre *in vivo*.

Références

- Bougandourara, Nabila, and Nassima BENDIMERAD. 2012. "Evaluation de l'activité Antioxydante Des Extraits Aqueux et Méthanolique de Satureja Calamintha Ssp.Nepeta (L.) Briq." *Nature et Technologies*, 2012.
- Chen, S. K., B. Y. Chen, and H. Li. 1997. *Flora of China*. 44 vols. Science Press; Beijing, China.
- Cuadra, Pedro, Jeffrey B. Harborne, and Peter G. Waterman. 1997. "Increases in Surface Flavonols and Photosynthetic Pigments in *Gnaphalium Luteo-Album* in Response to UV-B Radiation." *Phytochemistry* 45 (7): 1377–83. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(97\)00183-0](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(97)00183-0).
- Duarte, Juan, Francisco Pérez-Vizcaíno, Antonio Zarzuelo, José Jiménez, and Juan Tamargo. 1993. "Vasodilator Effects of Quercetin in Isolated Rat Vascular Smooth Muscle." *European Journal of Pharmacology* 239 (1–3): 1–7. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(93\)90968-N](https://doi.org/10.1016/0014-2999(93)90968-N).
- Huguet, Ana I., Salvador Máñez, and María José Alcaraz. 1990. "Superoxide Scavenging Properties of Flavonoids in a Non-Enzymic System." *Zeitschrift Für Naturforschung C* 45 (1–2): 19–24. <https://doi.org/10.1515/znc-1990-1-205>.
- Iqbal, Saleem, Chandrasekaran Sivaraj, and Krishnasamy Gunasekaran. 2017. "Antioxidant and Anticancer Activities of Methanol Extract of Seeds of *Datura Stramonium* L." *Free Radicals and Antioxidants* 7 (2): 184–89. <https://doi.org/10.5530/fra.2017.2.28>.
- Kpodar, Madje S., Simplicie D. Karou, Gnatoulma Katawa, Kokou Anani, Holaly E. Gbekley, Yao Adjrah, Tchadjobo Tchacondo, Komlan Batawila, and Jacques Simporé. 2016. "An Ethnobotanical Study of Plants Used to Treat Liver Diseases in the Maritime Region of Togo." *Journal of Ethnopharmacology* 181 (April): 263–73. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.12.051>.
- Kumar, Shashank, and Abhay K. Pandey. 2013. "Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview." *The Scientific World Journal* 2013: 1–16. <https://doi.org/10.1155/2013/162750>.
- Lopes-Lutz, Daíse, Daniela S. Alviano, Celuta S. Alviano, and Paul P. Kolodziejczyk. 2008. "Screening of Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Artemisia* Essential Oils." *Phytochemistry* 69 (8): 1732–38. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2008.02.014>.
- Lotio, S. B., and B. Frei. 2003. "RELEVANCE OF APPLE POLYPHENOLS AS ANTIOXIDANTS IN HUMAN PLASMA: CONTRASTING IN VITRO AND IN VIVO EFFECTS." *Free Radical Biology and Medicine*, November, S1079979603333303. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2003.10.005>.
- Mugisha, Maud Kamatenesi, and Hanington Oryem Origa. 2005. "Traditional Herbal Remedies Used in the Management of Sexual Impotence and Erectile Dysfunction in Western Uganda." *African Health Sciences* 5 (1).
- Nimse, Satish Balasaheb, and Dilipkumar Pal. 2015. "Free Radicals, Natural Antioxidants, and Their Reaction Mechanisms." *RSC Advances* 5 (35): 27986–6. <https://doi.org/10.1039/C4RA13315C>.
- Prieto, Pilar. 1999. "Spectrophotometric Quantitation of Antioxidant Capacity through the Formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E." *Analytical Biochemistry* 269 (2): 337–41. <https://doi.org/10.1006/abio.1999.4019>.
- Ramassamy, Charles. 2006. "Emerging Role of Polyphenolic Compounds in the Treatment of Neurodegenerative Diseases: A Review of Their Intracellular Targets." *European Journal of Pharmacology* 545 (1): 51–64. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2006.06.025>.
- Rice-Evans, Catherine. 2001. "Flavonoid Antioxidants." *Current Medicinal Chemistry* 8 (7): 797–807. <https://doi.org/10.2174/0929867013373011>.
- Sanogo, Rokia, Antonio Vassallob, Nicola Malafronteb, Salvatore Imparatob, Alessandra Russoc, and Fabrizio Dal Piazb. 2009. "New Phenolic Glycosides from *Securinega Virosa* and Their Antioxidant Activity." *Natural Product Communications* 4 (12): 1645–50.
- Sun, Lijun, Jianbao Zhang, Xiaoyun Lu, Liyu Zhang, and Yali Zhang. 2011. "Evaluation to the Antioxidant Activity of Total Flavonoids Extract from Persimmon (*Diospyros Kaki* L.) Leaves." *Food and Chemical Toxicology* 49 (10): 2689–96. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.07.042>.
- Tiwari, SUSHIL CHANDRA, and NISREEN Hussain. 2017. "BIOLOGICAL ACTIVITIES AND ROLE OF FLAVONOIDS IN HUMAN HEALTH—A REVIEW." *Indian J.Sci.Res.* 12 (2): 193–96.
- Togola, Issiaka, Abdramane Ansoumany Dembélé, Fatoumata Tounkara, Nouhoum Diarra, Mamadou Abdoulaye Konaré, Moussa Karembé, Seydou Zibba Maïga, and Doulaye Dembélé. 2019. "Evaluation of *in Vitro* Antioxidant

- Activities of Ethanol Extracts of *Datura Innoxia* Mill. Leaves and Seeds Harvested in Mali.” *Annual Research & Review in Biology*, September, 1–8. <https://doi.org/10.9734/arrb/2019/v33i230115>.
- Tugume, Patience, Esezah K. Kakudidi, Mukadasi Buyinza, Justine Namaalwa, Maud Kamatenesi, Patrick Mucunguzi, and James Kalema. 2016. “Ethnobotanical Survey of Medicinal Plant Species Used by Communities around Mabira Central Forest Reserve, Uganda.” *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 12 (1): 5. <https://doi.org/10.1186/s13002-015-0077-4>.
- Van Acker, Saskia A.B.E., Dirk-jan Van Den Berg, MichÈl N.J.L. Tromp, Désirée H. Griffioen, Wout P. Van Bennekom, Wim J.F. Van Der Vijgh, and Aalt Bast. 1996. “Structural Aspects of Antioxidant Activity of Flavonoids.” *Free Radical Biology and Medicine* 20 (3): 331–42. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)02047-0](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)02047-0).
- Wang, Xiaomin, Ye Li, Li Han, Jie Li, Cun Liu, and Changgang Sun. 2021. “Role of Flavonoids in the Treatment of Iron Overload.” *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 9 (July): 685364. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.685364>.
- Zeonwumelu, J O C, E K Matuki, A M Ajayi, A G Okoruwa, J K Tanayen, and CP Adiukwu. 2013. “Criblage Phytochimique, Acutéotoxicité et Propriétés Analgésiques de l’extrait Aqueux de Racine de *Flueggea Viro-Sa* Chez Le Rat; *Ibnosina*.” *Journal of Medicine and Biomedical Sciences*, 5 (1): 15–21.

Criblage phytochimique et activité antimicrobienne des extraits méthanoliques de deux plantes aromatiques et médicinales du Burkina Faso



OUATTARA Lamoussa Paul¹, MAIGA Idrissa², ZERBO Mamourou¹, BAZIE B. Valérie¹,
BATIONO K. Rémy¹, ZONGO Cheickna², SAVADOGO Aly², NEBIE C. H. Roger¹

¹Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique/Institut de Recherche en Sciences Appliquées et Technologies / (CNRST/IRSAT), Département Substances Naturelles ; 03 BP 7047 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

²Laboratoire de Biochimie et Immunologie Appliqué (LABIA), UFR/SVT, Université de Ouagadougou, 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso.



INTRODUCTION

Au cours des dernières décennies, la recherche de nouvelles molécules a connu un intérêt croissant suite à l'apparition et à la progression des germes résistants et multi résistants aux antimicrobiens les plus communément utilisés, en raison de leur utilisation intensive et irrationnelle. Cette résistance aux antimicrobiens constitue une menace mondiale préoccupante en santé publique (OMS, 2016). L'objectif de l'étude était d'évaluer les propriétés antimicrobiennes des extraits de deux plantes aromatiques et médicinales du Burkina Faso.

MATERIEL ET METHODES

➤ Matériel végétal



Figure 1 : *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh



Figure 2 : *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle

➤ Matériel biologique

Le matériel biologique est constitué de souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*) et de souches fongiques (*Candida albicans* et *Aspergillus* sp)

➤ Phytochimie et test biologique

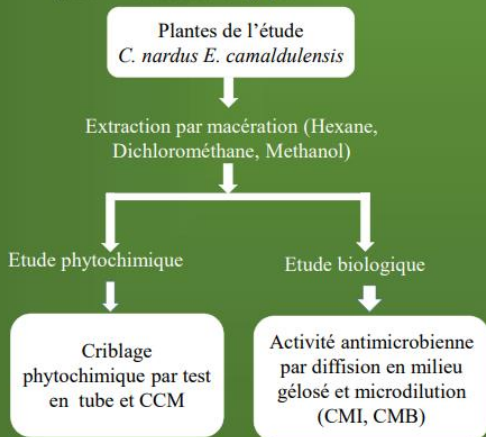


Figure 3 : schéma du criblage et du test biologique

RESULTATS

Tableau I : screening phytochimique des extraits.

Plantes étudiées	Solvant	Groupes chimiques recherchés				
		Tanins	Flavonoïdes	Alcaloïdes	Terpènes et stéroïdes	Saponosides
<i>E. camaldulensis</i>	DCM	-	+	-	+	-
	MeOH	+	+	-	-	+
<i>C. nardus</i>	DCM	-	+	-	+	-
	MeOH	+	+	-	-	-

+ : présence du groupe chimique

- : absence du groupe chimique

Tableau II : concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et Concentration Minimale Bactéricide (CMB) des extraits actifs

Souches bactériennes	Gram	CMI (mg/mL)		CMB (mg/mL)		CMB/CMI	
		<i>E. camaldulensis</i>	<i>C. nardus</i>	<i>E. camaldulensis</i>	<i>C. nardus</i>	<i>E. camaldulensis</i>	<i>C. nardus</i>
<i>E. coli</i> ATCC 35218	-	5	2,5	>10	>10	-/-	-/-
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	+	0,31	1,25	0,62	5	2	4
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	+	1,25	2,5	2,5	10	2	4
<i>S. epidermidis</i> ATCC 1532	+	2,5	5	>10	>10	-/-	-/-
<i>S. saprophyticus</i>	+	0,15	2,5	0,31	10	2	4

L'extrait au MeOH de *E. camaldulensis* présente donc une activité modérée vis-à-vis des souches de *Staphylococcus saprophyticus* et de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Toyang et al. 2012). La richesse de cet extrait en composés chimiques tels que les tannins et les flavonoïdes, réputés pour leur activité antibactérienne (Askun et al., 2009), pourrait justifier ce pouvoir antimicrobien observé.

Par ailleurs, les extraits au MeOH de *E. camaldulensis* et de *C. nardus* présentent un pouvoir bactéricide, (CMB/CMI = 4 respectivement), sur la plupart des souches de *Staphylococcus*.

CONCLUSION

Les résultats obtenus indiquent que les extraits au MeOH de *E. camaldulensis* et de *C. nardus* contiennent des composés actifs contre les bactéries Gram + du genre *Staphylococcus* et la bactérie Gram - *Escherichia coli*. Ces résultats pourraient donc justifier l'usage traditionnel des plantes étudiées dans le traitement de certaines pathologies en santé publique.

REFERENCES

- OMS, 2016. Plan d'action mondial pour combattre la résistance aux antimicrobiens, Genève : OMS; Suisse. 32 p
- TOYANG N. J., ATEH E. N., KEISER J., VARGAS M., BACH H., TANE P., SONDEGAM L. B., DAVIS H., BRYANT J., VERPOORTE R., 2012. Toxicity, antimicrobial and anthelmintic activities of *Vernonia guineensis* Benth. (Asteraceae) crude extracts. *JE*, 144: 700-704.
- ASKUN T., TUMEN G., SATIL F., ATEG M., 2009. *In vitro* activity of methanol extracts of plants used as spices against *Mycobacterium tuberculosis* and other bacteria. *FC*, 116: 289-294.

Effet bio-herbicide d'extraits de 13 plantes locales du Burkina Faso sur les graines de *Striga hermonthica* (Del.) Benth

Tinkoudougou Cathérine SAWADOGO/ILBOUDO ^{1,2&3}, Djibril YONLI ², Sourabié Soumaïla ², Patrice ZERBO ³, Hamidou TRAORE², Joseph Issaka BOUSSIM ³.

¹ Institut de Recherche en Sciences Appliquées et Technologies, 03 BP 7047 Ouagadougou 03, e-mail : icatherine40@yahoo.fr, Burkina Faso ;

² Institut de l'Environnement et de Recherches Agricoles, 04 B.P. 8645 Ouagadougou 04, Burkina Faso ;

³ Université de Ouagadougou, Unité de formation et de recherche en sciences de la vie et de la terre, 03 BP. 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso

Introduction

S. Hermonthica est herbe parasite répandue au Burkina Faso et se développe sur tous les types de sol (Ouédraogo, 1995; Boussim, 2002). Sa graine germe sous l'effet d'un stimulant produit par une racine (Wigchert, 1999) de plante hôte

Le *Striga* Infeste le sorgho (Figure 1), le maïs, le mil, le riz, le fonio, la canne à sucre (Elzein et Kroschel, 2003). Il en résulte une réduction drastique ou une perte totale de rendement de son hôte (Chantereau et al., 2013). Les pertes de rendements de sorgho au Burkina Faso ont été évaluées à 7% - 41% au Centre (Zombré et Nikiéma, 1992); 28% - 55% à l'Est (Traoré et Yonli, 2001); - 35 - 40 % au plan national (Gressel et al., 2004). Cela a entraîné un abandon de superficie importante des terres cultivées par les paysans (Boussim, 2002).



Figure 1 : Champ de sorgho infesté par *S. hermonthica*

Objectif
Identifier des plantes locales ayant des propriétés bio-herbicides pour la gestion de *Striga hermonthica*

Matériel et méthodes

Matériel

Graines de *S. hermonthica* récoltées en 2015 dans un champ de sorgho à Kouaré, Est du Burkina Faso (11 °95'03" Nord ;0°30' 58" Est)

Echantillons de treize (13) plantes récoltés (Tableau 1) au Centre du Burkina Faso, dans les environs de Ouagadougou.

Méthodes

Les échantillons ont été séchés à la température ambiante du laboratoire et réduits en poudre. Des extraits aqueux concentrés à 10% ont été préparés avec chacun des échantillons et d'eau distillée stérile, sous agitation pendant 24 h suivi d'une filtration. Deux extraits ont été réalisés avec *Azadirachta indica*: l'un à partir des feuilles et l'autre à partir de l'écorce. Ainsi, 14 extraits ont été utilisés pour tests d'inhibition et de stimulation de la germination des graines de *S. hermonthica* selon la méthode de Yonli et al. (2010). Les taux de germination (TG) ont été calculés et les moyennes ont été comparées à l'aide du logiciel JMP 12.1.0

Liste des plantes dont les échantillons ont servi à l'extraction aqueuse

Espèces végétales	Familles	Parties utilisées
<i>Acacia nilotica</i> var. <i>adansonii</i> (L.) Willd. ex Delile	Fabaceae-Mimosoideae	Ecorces (Ec)
<i>Azadirachta indica</i> A. Juss.	Meliaceae	Ecorces (Ec) et Feuilles (F)
<i>Balanites aegyptiaca</i> (L.) Delile	Balanitaceae	Ecorces (Ec)
<i>Cassia obtusifolia</i> L.	Fabaceae-Caesalpinioideae	Tiges et feuilles (TF)
<i>Crotalaria retusa</i> L.	Fabaceae-Faboideae	Tiges et feuilles (TF)
<i>Eucalyptus camaldulensis</i> Dehnh.	Myrtaceae	Feuilles (F)
<i>Euphorbia hirta</i> L.	Euphorbiaceae	Tiges et feuilles (TF)
<i>Jatropha curcas</i> L.	Euphorbiaceae	Feuilles (F)
<i>Jatropha gossypifolia</i> L.	Euphorbiaceae	Feuilles (F)
<i>Khaya senegalensis</i> (Desr.) A. Juss.	Meliaceae	Ecorces (F)
<i>Lawsonia inermis</i> L.	Lythraceae	Feuilles (F)
<i>Moringa oleifera</i> Lam.	Moringaceae	Feuilles (F)
<i>Phyllanthus amarus</i> L.	Phyllanthaceae	Feuilles (F)

Résultats

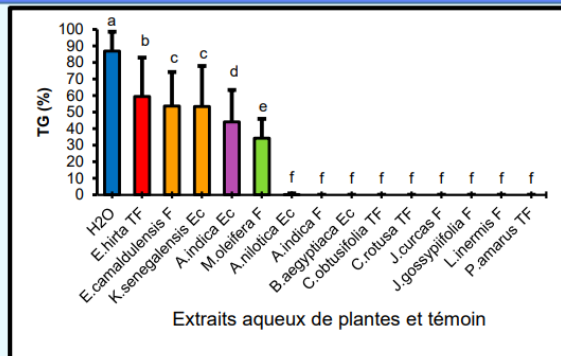


Figure 2: Effet d'inhibition des extraits aqueux de plantes sur la germination des graines de *S. hermonthica*

NB: Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de Fischer

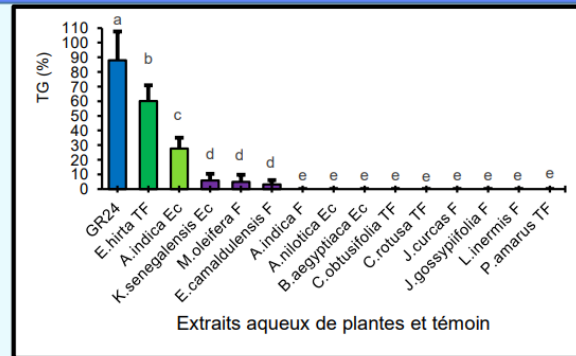


Figure 3: Effet de stimulation des extraits aqueux de plantes sur la germination des graines de *S. hermonthica*

NB: GR24= stimulant de germination témoin

Conclusion

L'inhibition de la germination des graines de *S. hermonthica* a été totale par l'application de 8 extraits aqueux: ceux de *P. amarus*, *L. inermis*, *J. curcas*, *J. gossypifolia*, *C. obtusifolia*, *C. retusa*. Les extraits de *E. hirta* et de feuilles de *A. indica* (10 %) ont été les plus efficaces à stimuler la germination. Le Burkina Faso regorge donc de ressources végétales pouvant être exploitées comme bio-herbicides dans la gestion de *S. hermonthica*. Des expérimentations complémentaires pourront aboutir à la formulation de bio-herbicides pour une gestion écologique de la plante parasite dans les champs de cultures céréalières.

Remerciements

Nous remercions sincèrement le WAAPP/ PPAAO pour le financement de cette étude

Effet de la poudre et des extraits acétonique et éthanolique de *Ctenium elegans* sur *Amitermes evuncifer*

Oudjaniyobi Simalou^{1*}, Kodjo Adande¹, Boris Dodji Kassene², Eyabana Mollong², Kafui Kpegba¹

¹ Laboratoire de Chimie Organique et des Substances Naturelles (Lab COSNat),
Faculté des Sciences, Université de Lomé, 01 BP 1515 Lomé 01, Lomé, Togo.

² Laboratoire d'Entomologie Appliquée, Département de Zoologie, Faculté des Sciences, Université de Lomé, 01 BP 1515
Lomé 01, Lomé, Togo

*Auteur correspondant ; E-mail : jacobsimalou@yahoo.fr

Résumé

Les termites sont des insectes xylophages¹ qui causent des dégâts aux cultures et aux structures en bois. Leur lutte longtemps basée sur l'utilisation des insecticides chimiques, se focalise actuellement sur les bio-pesticides². Dans le but de rechercher un bio-insecticide efficace contre les termites, la poudre et l'extrait acétonique et éthanolique de *Ctenium elegans* ont été testés sur *Amitermes evuncifer*. Cinq différentes concentrations de chaque formulation ont été testées. Pour chaque concentration de chacune des formulations, six répétitions ont été faites avec 25 et 30 ouvriers de termites respectivement pour les extraits et la poudre dans des boîtes de pétri. Les termites ont été suivis quotidiennement jusqu'à la mort du dernier individu. L'étude phytochimique a montré la présence de tanins, de terpénoïdes. Ces composés possèdent des propriétés insecticides³. Toutes les doses des poudres et extraits ont réduit la durée de survie et l'espérance de vie des termites par rapport aux témoins. En effet, en $4.5 \pm 0,55$ jours, la forte concentration de l'extrait éthanolique a tué tous les termites contre $6,5 \pm 0,55$ et $11,83 \pm 2,40$ jours respectivement pour la même concentration de l'extrait acétonique et la poudre. Ainsi d'après les résultats obtenus, ces trois formulations pourraient être utilisées comme bio-insecticide contre les termites.

Mots clés: *Ctenium elegans*, biopesticides,, activité anti-termite, *Amitermes evuncifer*

Effect of powder and ethanolic and acetic extracts of *Ctenium elegans* on *Amitermes evuncifer*

Abstract

Termites because of their feeding habit¹ cause damage to crops and wooden structures. During several decades, their control was mainly based on the use of synthetic chemicals. These chemicals tend to be replaced by environment friendly chemicals known as bio-pesticide². This study aimed to evaluate the effect of the powder and acetone and ethanol extracts of *Ctenium elegans*, on the survival duration and life expectancy of *Amitermes evuncifer*. Five different concentrations of each tested formulation were performed. For each tested concentration, six replicates were done with 20 and 30 workers, respectively for extracts and powders. Termites were checked daily until the death of the last individual. The phytochemical analysis carried out on both extracts showed the presence of tannins. These compounds have insecticidal properties³. All the tested formulations at any concentration affected significantly the survival duration and life expectancy of termites. However the extracts appeared to be the most effective. Indeed, in $4.5 \pm 0,55$ days, the highest concentration of the ethanolic extract killed all the termites while $6,5 \pm 0,55$ and $11,83 \pm 2,40$ days are needed respectively for the same concentration of the acetic extract and powder. These formulations of *Ctenium elegans* could be regarded as potential bio-insecticide against *Amitermes evuncifer*.

Keywords : *Ctenium elegans*, biopesticides, anti-termite activity, *Amitermes evuncifer*

1. Introduction

Les termites (insectes xylophages), constituent une des composantes biotiques majeures des écosystèmes tropicaux. Ils représentent avec les fourmis, près de 65% de la biomasse de la faune du sol[1]. Les termites jouent un rôle clé dans le fonctionnement de l'écosystème forestier où ils interviennent dans le recyclage de la matière organique. En dépit de leur important rôle, un petit nombre de termites causent des dommages considérables aux structures en bois sont reconnues comme nuisibles aux végétaux vivants et aux bâtiments [2]. Ils s'attaquent ainsi aux bois morts, aux arbres vivants, aux cultures vivrières, aux plantations aux meubles et sur les plantations de canne à sucre [3]. Parmi les termites ravageurs, *Amitermes evuncifer* est l'une des espèces les plus dévastatrices et il est susceptible de causer de sérieux dégâts non seulement aux bois morts et vivants mais aussi à d'autres objets comme les papiers et les meubles des constructions [4]. *A. evuncifer* a été décrite comme en tant une espèce la plus dévastatrice sur les arbres fruitiers et aussi la plus nuisible sur le palmier à huile [5]. Les dommages

causés par les termites sont importants et les coûts des réparations sont énormes. En effet, la lutte contre les termites ravageurs a été longtemps focalisée sur l'utilisation des insecticides chimiques (synthétiques) tels que les organochlorés, organophosphorés et les carbamates. Ces pesticides entraînent des effets néfastes sur la santé humaine et environnementale [6]. Pour toutes ces raisons, il devient nécessaire de trouver des méthodes alternatives fiables et respectueuses de l'environnement pour une meilleure gestion des insectes nuisibles. De nos jours l'utilisation des extraits et poudres des plantes retient de plus en plus l'attention des chercheurs. Kasseney et al. (2016) ont testé les extraits de trois plantes (dont : *Cissus quadrangularis*, *Pennisetum purpureum* et *Vetiveria zizanoides*) contre *Macrotermes subhyalinus* et *Trinervitermes* ; les résultats obtenus sont efficaces[7]. C'est dans cette perspective qu'une plante aromatique de la flore tropicale togolaise (*Ctenium elegans*) a retenu notre attention. En effet, cette plante est traditionnellement utilisée en médecine traditionnelle[8]. Par ailleurs, la seule étude réalisée sur cette plante a porté sur la composition chimique de l'huile essentielle. L'étude a montré principalement la présence de composés terpénoïdes (momoterpènes et sesquiterpènes) et de phénylpropanoïdes, famille de composés qui sont tous connus comme biologiquement actifs contre les insectes et les champignons[9]. A notre connaissance, le criblage phytochimique et l'activité termiticide des extraits de *C. elegans* n'ont pas été rapportés précédemment et constituent l'objectif de ce travail. Ainsi, dans cette étude, nous avons évalué l'activité antitermite de trois formulations comprenant deux extraits et une poudre de *C. elegans* contre *A. evuncifer* afin de trouver les bonnes formulations pour la gestion des termites nuisibles.

2. Matériel et méthodes

Matériel végétal

Les tiges feuillées de cette plante ont été récoltées dans le village de Danyi Koudzragan (Lat N 7°8'29,1768" et Long E 0°37'30,21996"). L'identification de la plante a été aussi effectuée par le Laboratoire de Botanique de l'Université de Lomé et un numéro TOGO 15509 a été attribué. Les tiges feuillées ont été séchées et broyées. La poudre a été conservée au frais.

Préparation d'extraits de *C. elegans*

Les feuilles récoltées de *C. elegans* ont été séchées pendant deux (2) semaines à température ambiante et broyées. 100 g de poudres obtenues ont été trempés dans 100 ml d'acétone ou d'éthanol et les mélanges ont été soumis à une agitation manuelle intermittente pendant 72 h. Le macérat de chaque solvant a été évaporé par un évaporateur rotatif et les extraits obtenus ont été recueillis et stockés dans un réfrigérateur (5 à 10°C).

Détermination des groupes chimiques dans les extraits

Un criblage phytochimique et des tests de dosage ont été réalisés sur les deux extraits de plantes afin de déterminer leurs principaux groupes chimiques. Toute la méthodologie a suivi[10]. Les flavonoïdes ont été détectés en ajoutant à 0,5 mL de chaque extrait, dix gouttes d'acide chlorhydrique et quelques milligrammes de tournures de magnésium. Après trois minutes d'incubation, la couleur rose-rouge ou jaune indiquait la présence de flavonoïdes. De même, la présence de tanins a été détectée par le changement de coloration des extraits lors de l'ajout de chlorure ferrique à 1% dans 1 ml d'extrait et après quelques minutes d'incubation. Les alcaloïdes ont été détectés en ajoutant 2 ml d'acide chlorhydrique (1%) dans 1 ml d'extrait. La formation d'un précipité blanc-jaunâtre sous le réactif de Mayer et rouge-orange ou brun sous le réactif de Bouchardat indique la présence d'alcaloïdes. Les saponosides ont également été détectés en ajoutant 5 ml d'eau distillée à 2 ml d'extrait. Le résultat était positif si la hauteur de la mousse était supérieure à 1 cm après 15 min d'agitation. Pour déterminer les stéroïdes et les terpénoïdes, 0,5 ml de chloroforme et 0,7 ml d'une solution d'acide sulfurique ont été ajoutés à 1 ml d'extrait. La couleur vert-bleu a révélé la présence d'hétérosides stéroïdiens et la couleur vert-violet a révélé la présence d'hétérosides terpéniques. Les composés réducteurs ont été détectés en ajoutant 2 ml de liqueur de fehling à 2 ml d'extrait. Après avoir chauffé dans le bain pendant 8 min, la formation d'un précipité rouge brique a indiqué la présence de composés réducteurs. Pour la détection des glycosides cardiotoniques, 2 ml de chloroforme ont été ajoutés à 1 ml d'extrait, et l'apparition d'une coloration rouge-brun après l'ajout de H₂SO₄ a indiqué la présence de glycosides cardiotoniques.

Matériel animal

Des ouvriers de *A. evuncifer* ont été utilisés pour les tests biologiques. Termites ont été collectés dans le jardin botanique de l'Université de Lomé, Togo (06°30'14.9 "N ; 001°20'08.1 "E) et acclimatés dans des

conditions de laboratoire (28°C, 80% d'humidité relative) dans l'obscurité totale (12:12H DD), 24 heures avant le début des tests.

Test biologique

Les tests biologiques ont été réalisés par contact avec des extraits (acétonique et éthanolique) et de la poudre de *C. elegans* en suivant la méthodologie proposée par [11].

Trois formulations, poudres, extraits acétonique et éthanolique ont été utilisées dans ce travail. Cinq concentrations différentes de chaque formulation ont été comparées à deux contrôles (A et B). Le contrôle A consistait en une rondelle de papier filtre placée dans une boîte de Pétri de 9 cm de diamètre. De même, le contrôle B consiste en le même dispositif que le contrôle A, sauf que le papier filtre a été imprégné du solvant d'extraction (acétone ou éthanol) et laissé à l'air libre pendant 24 h pour éliminer le solvant. Le contrôle B a été utilisé pour s'assurer que le solvant utilisé pour la préparation des concentrations s'était complètement évaporé des papiers-filtres et n'avait donc aucun effet direct ou indirect sur les bioessais.

Un total de six répétitions a été effectué pour chaque concentration testée ainsi que pour les contrôles. Chaque concentration de poudre a été placée dans une boîte de Pétri en plastique dont le fond était tapissé de papier filtre. La poudre a ensuite été répartie uniformément sur toute la surface de la rondelle de papier filtre à l'intérieur de la boîte de Pétri. Les masses respectives des concentrations de chaque extrait ont d'abord été dissoutes dans 5 mL de solvant d'extraction directement sur le papier filtre initialement placé au fond de la boîte de Pétri en verre (9 cm de diamètre). Le tout a été laissé à l'air libre pendant 24 h pour éliminer le solvant. Les différentes concentrations utilisées étaient : 0,5, 1, 2, 4 et 6 mg/cm².

Les ouvrières d'*A. evuncifer* ont été triées et introduites dans des boîtes de Pétri dont le fond était tapissé de papier filtre légèrement imbibé d'eau distillée. Elles ont été laissées en observation pendant trois heures avant d'être mises en contact avec les extraits. Vingt-cinq (25) travailleurs ont été exposés à chaque concentration d'extraits (acétonique et éthanolique) de la plante testée. Pour les poudres, trente (30) ouvriers ont également été exposés à chacune des cinq concentrations testées. Les boîtes de Pétri contenant les termites ont été maintenues dans des conditions de laboratoire (28°C et 78% d'humidité relative) dans l'obscurité totale (12:12 h DD). Les termites ont été contrôlés toutes les six heures. A chaque vérification, les individus morts et vivants ont été comptés et les morts ont été retirés des boîtes de Pétri. La vérification a été effectuée après 6 h et après chaque 24 h jusqu'à la mort du dernier individu.

Temps de survie

Le temps de survie est le temps qu'un termite individuel passe en contact avec le matériel végétal testé avant de mourir[12]. Il a été estimé en jours.

$D_s = t_x - t_0$

D_s : durée de survie.

t_x : temps passé par le dernier individu termite avant sa mort.

t_0 : temps de contact initial des termites avec les différentes concentrations.

Espérance de vie des termites

Il s'agit d'une estimation du nombre de jours qu'un termite individuel mis en contact avec l'extrait est censé atteindre avant de mourir. L'espérance de vie a été calculée à l'aide du logiciel Ecological Methodology 7.3[12].

3. Résultats et Discussion

3.1. Criblage phytochimique

Les résultats obtenus montrent la présence de tanins et de terpénoïdes dans les extraits acétonique et éthanolique de *C. elegans* (tableau1).

Groupes chimiques	<i>Ctenium elegans</i>	
	Extrait acétonique	Extraits éthanolique
Tannins	+	+
Terpénoïdes	+	+

+ : présence ; - : absence.

L'étude phyto-chimique ainsi faite a révélé la présence de tanins et de terpénoïdes dans les deux extraits acétonique et éthanolique. Ces résultats obtenus ne pourront être comparés car aucune étude antérieure sur les tests phyto-chimiques n'a été faite sur ces deux plantes à notre connaissance. Mais ils représentent un atout essentiel qui nous permettra de démontrer les propriétés insecticides des deux plantes. Selon

Nsambu *et al.*, (2014) les métabolites secondaires constituent de nouvelles sources potentielles de contrôle des insectes ravageurs des cultures ou des denrées stockées[13]. Tahiri *et al.*, (2010) ont montré que les terpénoïdes ont des propriétés insecticide, fongicide, répulsive. Aussi Zhang *et al.*, (1990) ont également montré que les tanins sont des composés qui possèdent des propriétés insecticides, larvicides et répulsifs[15]. Par conséquent l'existence de terpénoïdes et de tanins dans les différents extraits des deux plantes peut être responsable de la présence de plusieurs propriétés dans ces deux plantes.

3.2. Effet des poudres et des extraits de *C. elegans* sur la durée de survie.

Tableau II : Durée de survie des ouvriers d'*Amitermes evuncifer* en contact avec la poudre et les extraits acétonique et éthanolique de *Ctenium elegans*.

	Durée de survie (jours)		
	Poudre	Extrait acétonique	Extrait éthanolique
Témoin négatif	34±2,45a	28,67±2,88a	28,67±2,88a
Témoin positif		24,5±2,26b	26±2,19a
0,5 mg/cm²	20,33±8,45b	14,17±1,47c	15,17±2,14b
1mg/cm²	21,5±11,59ab	6,67±1,51d	6,17±0,41c
2mg/cm²	14,50±8,87b	6d	6c
4mg/cm²	11,83±2,40b	4,5±0,55d	6,5±0,55c
6mg/cm²	11,17±2,64b	5,33±0,52d	5,5±0,55c
	F _(5, 30) =45,654; p<0,001 Bonferroni post hoc test	F _(6,35) = 178,966; p<0,001 Bonferroni post hoc test	F _(6, 35) = 85,904, p<0,001 Bonferroni post hoc test

L'analyse de variance à 2 facteurs entre les extraits et la poudre de *C. elegans* a montré qu'il y a une différence significative non seulement au sein des traitements (F(2, 120)= 42,925, p<0,001), mais également au sein des concentrations (F(6, 120)=89,858, p<0,001). Néanmoins aucune interaction n'a été trouvée entre les traitements et les concentrations (F(11,120)=1,59, p<0,113). Toutes les concentrations des trois traitements ont significativement réduit la durée de survie des termites comparativement aux 2 témoins et surtout les doses 4 et 6 mg/cm² ont été plus efficaces.

D'après les résultats, on constate que les termites ayant séjourné dans les témoins ont une durée de survie plus longue que ceux ayant séjourné dans les différentes concentrations des poudres et extraits (Tableau II). Ceci justifie qu'il existe certaines substances toxiques présentes dans les poudres et extraits qui agissent sur les termites; comme exemple de l'azadirachtine extraite de *Azadirachta indica* possédant une activité insecticide très efficace[16]. Bien qu'ayant montré des effets contre les termites, les poudres et les extraits n'ont pas présenté le même degré d'efficacité. Dans l'ensemble, les extraits ont été plus efficaces sur les ouvriers de *A. evuncifer* que les poudres. D'après Obsbrink *et al.*, (2001), l'activité insecticide des plantes varie en fonction des traitements et en fonction des espèces de termites[17]. De même, selon Pettersen, (1984), les propriétés termiticides des plantes reposent principalement sur les métabolites secondaires ou les matières organiques extractibles telles que les extraits, les cires, les alcaloïdes, les graisses, les gommes, les résines, les terpènes et les huiles essentielles[18].

3.3. Effet des poudres et des extraits de *C. elegans* sur l'espérance de vie de *A. evuncifer*

Effet des poudres de *C. elegans* sur l'espérance de vie de *A. evuncifer*

La formulation poudre de cette plante a significativement affecté l'espérance de vie des termites (F(5,30)=45,654, p<0,001). Toutes les concentrations ont significativement (p<0,001) réduit l'espérance de vie des termites par rapport aux témoins (22,66±3,55 jours). De plus la réduction de l'espérance de vie n'a pas été concentration dépendante pour cette formulation (poudre) car aucune différence significative (0,162≤p≤1) n'a été trouvée entre les valeurs de l'espérance de vie calculée pour les différentes concentrations testées (Figure 1).

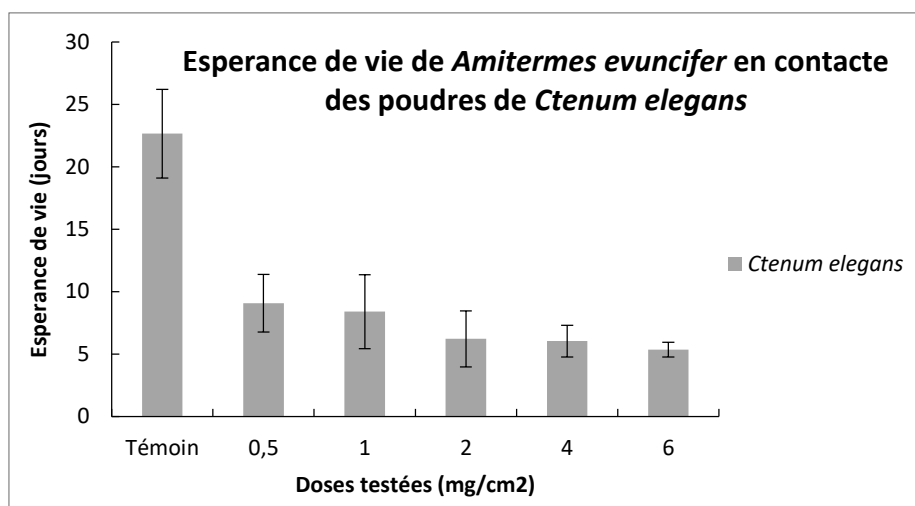


Figure 1 : Esperance de vie des termites en contact des poudres de *Ctenium elegans*

Effet de l'extrait acétonique de *C. elegans* sur l'espérance de vie de *A. evuncifer*

L'extrait acétonique a également entraîné une réduction significative de l'espérance de vie des termites ($F(6,35)=178,966$, $p<0,001$) par rapport aux deux témoins négatif et positif ($16,58\pm 2,17$ et $17,11\pm 1,89$ jours respectivement). Aucune différence n'a été trouvée entre les espérances de vie enregistrées dans les concentrations supérieures ($3,90\pm 0,11$; $3,59\pm 0,35$ et $2,50\pm 0,24$ jours respectivement pour les concentrations 2, 4, et 6 mg/cm²) (Figure 2).

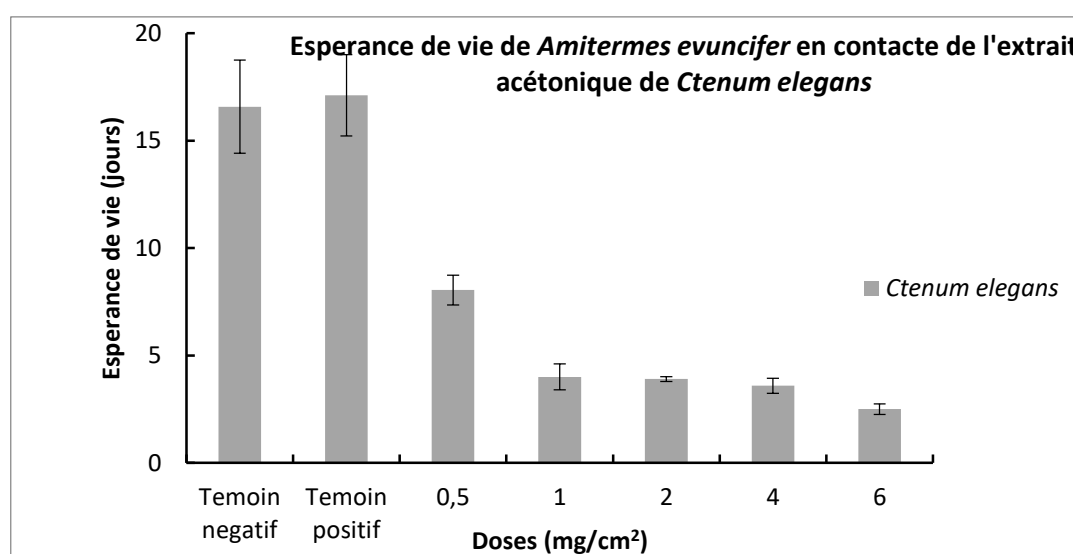


Figure 2 : Esperance de vie des termites en contact de l'extrait acétonique de *Ctenium elegans*

Effet de l'extrait éthanolique de *C. elegans* sur l'espérance de vie de *A. evuncifer*

L'extrait éthanolique de cette plante a aussi affecté l'espérance de vie des termites ($F(6,35)=51,406$, $p<0,001$). Aucune différence significative n'a été trouvée entre les durée de l'espérance de vie enregistrée chez les témoins négatif et positif ($16,58\pm 2,17$ et $16,85\pm 2,7$ jours respectivement). Les concentrations 0,5 et 1 mg/cm² ont été les moins efficaces ($9,01\pm 1,72$ et $5,54\pm 0,38$ jours respectivement) (Figure 3). Les concentrations 2, 4 et 6 mg/cm² de l'extrait éthanolique de cette plante ont été très efficaces dans la réduction de l'espérance de vie des termites (respectivement $5,21\pm 0,12$, $4,99\pm 0,09$ et $3,88\pm 0,35$ jours).

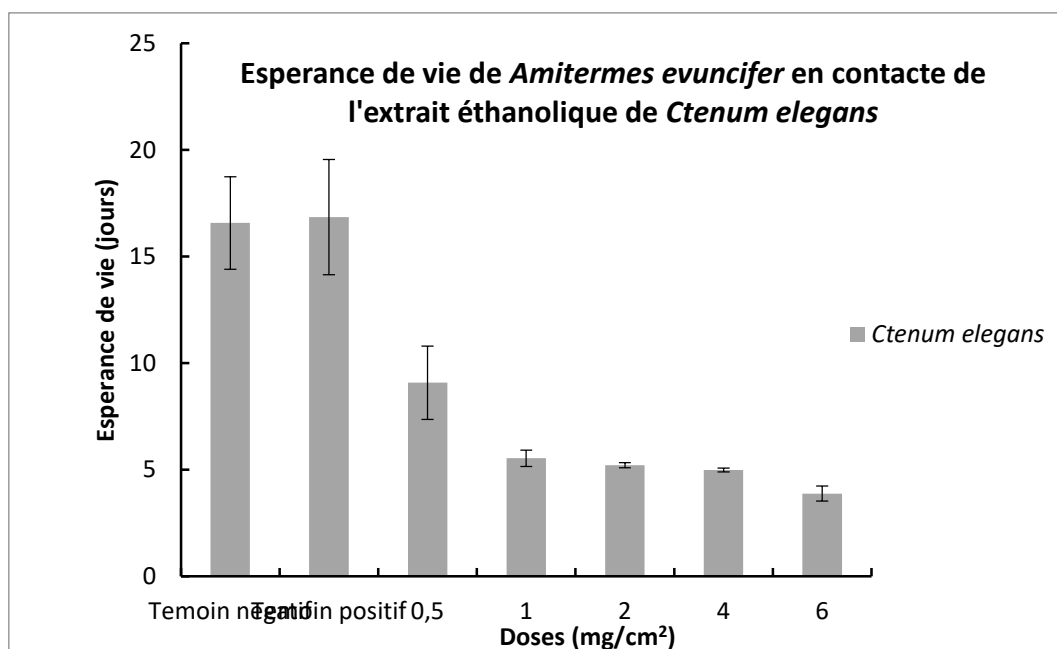


Figure 3 : Esperance de vie des termites en contact de l'extrait éthanolique de *Ctenium elegans*

Les diagrammes établis ont montré que la réduction de l'espérance de vie a été très significative et surtout pour les doses élevées de chaque traitement. Ceci montre que l'efficacité de l'activité anti-termite des extraits augmente avec la concentration utilisée.

De façon générale, l'extrait acétonique a présenté un effet insecticide plus efficace que l'extrait éthanolique. En effet, Teugwa et al., (2002) ont stipulé que l'efficacité d'un produit serait fonction du solvant utilisé [19]. Les substances actives contre les termites ont été donc plus extraites par l'acétone que l'éthanol, donc plus solubles dans l'acétone que l'éthanol.

4. Conclusion

L'objectif de ce travail visait à évaluer l'effet de la poudre et des extraits de *Ctenium elegans* sur *Amitermes evuncifer*. Dans un premier temps, la partie chimique de ce travail a été faite et consistait à faire le screening phytochimique effectué sur les extraits a montré la présence de terpénoïdes et de tanins dans les deux extraits. Ces composés possèdent tous des propriétés insecticides; ce qui nous a permis d'une part de justifier l'activité insecticide dont disposent les extraits de cette plante. Concernant les tests biologiques, toutes les concentrations ont présenté un effet insecticide contre l'espèce de termite *A. evuncifer*. Pour une même concentration, les deux extraits (acétonique et éthanolique) ont réduit la durée de survie et l'espérance de vie plus que les poudres. Ce qui indique que les extraits ont été plus efficaces que les poudres.

Vue les résultats obtenus lors de notre étude, cette plante présente des propriétés insecticides qui peut être potentiellement considérée comme bio-insecticide dans la gestion de l'espèce *A. evuncifer*.

5. Bibliographie

- [1] Jones, S. C. (1990). Colony Size of the Desert Subterranean Termite *Heterotermes aureus* (Isoptera : Rhinotermitidae). *The Southwestern Naturalist*, 35(3), 285-291. <https://doi.org/10.2307/3671941>.
- [2] Logan, J., Cowie, R., & Wood, T. (1990). Termite (Isoptera) control in agriculture and forestry non-chemical methods. *Bulletin of Entomology Research*. 80, Pp 309-330.
- [3] A. Kotoklo E., Inventaire des termites et évaluation de leurs dégâts dans deux champs de cannes à sucre au sud du Togo, 2007, Togo.
- [4] Ndiaye, A. B., & Han, S. H. (2006). L'attaque des arbres fruitiers par les Termites dans la région de Thiès (Sénégal) (Isoptera). *Bulletin de la Société entomologique de France*. 111(1),59-64. https://www.persee.fr/doc/bsef_0037-928x_2006_num_111_1_16286.
- [5] Sane, C. A. B., Rouland-Lefevre, C., Grechi, I., Rey, J.-Y., Vayssieres, J.-F., Diame, L., & Diarra, K. (2016). Diversité, nuisances et modes de gestion des termites (Isoptera).

- [6] Lemaire, G., Terouanne, B., Mauvais, P., Michel, S., & Rahmani, R. (2004). Effect of organochlorine pesticides on human androgen receptor activation in vitro. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 196(2), 235-246. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2003.12.011>.
- [7] Kasseny, B. D., Nyamador, S. W., Mondedji, A. D., Ketoh, G. K., & Glitho, A. I. (2016). Termiticidal activities of few plant extracts against *Macrotermes subhyalinus* smethman and *Trinervitermes geminatus* wasmann (Isoptera : Termitidae) survival. *African Journal of Agricultural Research*, 11(28), 2475-2480. <https://doi.org/10.5897/AJAR2016.11146>
- [8] Sourabie, K. M., Kayouli, C., & Dalibard, C. (1995). Le traitement des fourrages grossiers à l'urée, une technique prometteuse au Niger. www.fao.org/DOCREP/V4440T/V4440Tob.jpg
- [9] M. R. Tellez, I. A. Khan, M. Kobaisy, K. K. Schrader, F. E. Dayan, et W. Osbrink, Composition of the essential oil of *Lepidium meyenii* (Walp.), 2002, vol. 61, p. 149–155.
- [10] Chaouche, T.M., Haddouchi, F., Atik-Bekara F. (2011) Phytochemical study of roots and leaves of the plant *Echium pycnanthum* Pomel. *Der Pharmacia Lettre* 3(2): 1–4
- [11] Raina, A., Bedoukian, R., Florane, C., & Lax, A. (2012). Potential of Natural Products and Their Derivatives to Control Formosan Subterranean Termites (Isoptera : Rhinotermitidae). *Journal of Economic Entomology*, 105(5), 1746-1750. <https://doi.org/10.1603/EC10229>
- [12] Krebs, C., *Ecological Methodology*, 2nd Edition. Addison Wesley Longman, Menlo Park, California, USA, 1999.
- [13] Nsambu, M., Muhigwa, B., Rubabura, K., Bagalwa, M., & Bashwira, S. (2014). Evaluation in vitro activity of insect alkaloid, saponins, terpenoids or steroids extracts *capsicum frutescens* L. (solanaceae) against *Antestiopsis orbitalis* Ghesquierei, pests of coffee trees. *International Journal of Innovation and Applied Studies*. 8(3), Pp. 1231-1243. <http://www.ijias.issr-journals.org/>
- [14] Tahiri, A., Assi, M., & Amissa, A. (2010). Toxicité et mode d'action des extraits de *Carica papaya* L. (Caricaceae) sur *Macrotermes bellicosus* Rambur (Isoptera; Macrotermitinae)*. *Agriculture*, 19(4), 267-272. <https://doi.org/10.1684/agr.2010.0408>.
- [15] Zhang, J., Takahashi, k, & Kono, y. (1990). Bioactive condensed tanins from bark : Chemical properties, enzyme inhibition and anti-plant-viral activities. *Journal of Pesticide Science*, 15(5), 85-91
- [16] Regnault-Roger, C., & Hamraoui, A. (1997). Lutte contre les insectes phytophages par les plantes aromatiques et leurs molécules allélochimiques. *Acta Botanica Gallica*, 144(4), 401-412. <https://doi.org/10.1080/12538078.1997.10515779>.
- [17] Osbrink, W. L. A., Lax, A. R., & Brenner, R. J. (2001). Insecticide Susceptibility in *Coptotermes formosanus* and *Reticulitermes virginicus* (Isoptera : Rhinotermitidae). *Journal of Economic Entomology*, 94(5), 1217-1228. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-94.5.1217>
- [18] Pettersen, R. (1984). The Chemical Composition of Wood. *The Chemistry of Solid Wood*, Pp 57-126. doi: 10.1021/ba-1984-0207.ch002
- [19] M. Teugwa, G. Piam, P. Tane, et P. AmvamZollo, « Activité insecticide des extraits d'*Ageratum haustonianum*, de *Clausena anisata* et de *Croton macrostachyus* sur le bruché du niebé (*Vigna unguiculata* walp). », *Improving Food systems in subsaharan Africa : responding to changing environnement*, Food africa, p. 4p, 2002.

Effets de la graine de *Griffonia simplicifolia* (DC.) Baill. contre le stress thermique chez les poulets de chair de souche Sasso, à croissance lente

Novidzro Kosi Mawuéna^{1*}, Egbare Natacha Mazabello², Melila Mamatchi¹ et Metowogo Kossi³

¹Laboratoire de Génie des Procédés et des Ressources Naturelles (LAGEPREN) ; 01 BP 1515, Université de Lomé -Togo

²Centre d'Excellence Régional sur les Sciences Aviaires (CERSA) ; 01 BP 1515, Université de Lomé -Togo

³Physiopathologie-Substances Bioactives et Innocuité ; 01 BP 1515, Université de Lomé -Togo.

*Auteur correspondant : Novidzro Kosi Mawuéna ; E-mail : donnenovi@yahoo.fr / donnenovi@gmail.com

Résumé :

Le stress thermique est l'une des principales causes de mortalité et de baisse de productivité des volailles. La présente étude vise à contribuer à la sécurité alimentaire au Togo par la valorisation de la graine de *Griffonia simplicifolia* dans la nourriture des poulets afin qu'ils puissent résister au stress thermique.

Ce travail a été réalisé sur 210 poussins de souche Sasso à croissance lente, répartis en cinq lots. Les oiseaux des lots T2, T3 et T4 ont reçu dans leur nourriture la graine à des doses respectives de 2,5 ; 5,0 et 10,0 g de poudre/kg d'aliment. Les oiseaux du lot T0 ont servi comme témoin négatif. Ceux du lot T1, considérés comme témoin positif, ont été nourris avec 0,5 g de poudre d'aspirine/kg d'aliment.

Les résultats ont montré que la graine aurait des effets positifs sur les paramètres zootechniques. Certaines biomolécules présentes dans la graine comme par exemple 5-HTP constitueraient des atouts majeurs améliorant les performances des oiseaux.

En conclusion, la graine de *Griffonia simplicifolia* peut servir comme une alternative intéressante pour combattre le stress thermique chez poulets étudiés. Des investigations complémentaires sont également nécessaires pour déterminer les effets de la graine sur les paramètres hématologiques des poulets.

Mots clés : Poulets Sasso, stress thermique, *Griffonia simplicifolia*, paramètres zootechniques, sécurité alimentaire.

Effects of the seed of *Griffonia simplicifolia* (DC.) Baill. against heat stress in slow growing Sasso strain broilers

Abstract:

Heat stress is one of the main causes of poultry mortality and reduced productivity. This study aims to contribute to food security in Togo by promoting the seed of *Griffonia simplicifolia* in the diet of chickens so that they can withstand heat stress.

This work was carried out on 210 slow-growing Sasso chicks, split into five lots. The birds of lots T2, T3 and T4 received the seed in their food at respective doses of 2.5; 5.0 and 10.0 g powder/kg of food. Birds from lot T0 served as a negative control. Those of lot T1, considered as a positive control, were fed with 0.5 g of aspirin powder/kg of food.

The results showed that the seed would have positive effects on zootechnical parameters. Some biomolecules present in the seed such as 5-HTP would constitute major advantages improving the performance of the birds.

In conclusion, the seed of *Griffonia simplicifolia* can serve as an interesting alternative to combat heat stress in the chickens studied. Further investigations are also needed to determine the effects of the seed on haematological parameters of chickens.

Keywords: Sasso chickens, heat stress, *Griffonia simplicifolia*, zootechnical parameters, food safety.

1) Introduction :

En Afrique, l'aviculture connaît un essor rapide dû à l'élevage des volailles à cycle court, à la création d'emplois pour les jeunes à la fois aux niveaux local et urbain, puis surtout grâce à la facilité de mise en place des pratiques d'élevage des volailles (Missohou, 2008). En 2017, le Programme National d'Investissement et de Sécurité Alimentaire (PNIASA) et le Projet d'Appui au Secteur Agricole (PASA) ont permis d'enregistrer une forte progression dans le secteur avicole au Togo. En effet, durant environ six ans, la production avicole a triplé voire plus (Togofirst, 2018) en passant de 8 millions de têtes de volailles en 2011 à 25 millions en 2017. Dès lors, l'aviculture est considérée au Togo comme le principal levier pour booster l'économie togolaise et assurer l'autosuffisance alimentaire pour la population en protéines d'origine animale. Cependant, l'intensification de la production avicole au Togo, fait face à des obstacles majeurs parmi lesquels on peut évoquer les fortes températures enregistrées durant certaines périodes de l'année. Durant ces moments chauds, les oiseaux en élevage sont soumis au stress thermique très important provoquant des fois une très forte mortalité chez les oiseaux,

occasionnant de lourdes pertes économiques pour les éleveurs (Picard et al., 1993). Dans la plupart des cas, ce stress thermique provoque une baisse d'appétit chez les oiseaux et une perte d'énergie entraînant la diminution de leurs performances zootechniques.

Pour lutter contre le stress thermique chez les volailles, des alternatives nutritionnelles (Rao et al., 2002) et de complémentation en additifs alimentaires (Zulkifli et al., 2002 ; Hassan et al., 2005 ; Sahin et al., 2005) ont été mises au point ces dernières années, surtout grâce à l'usage des légumineuses. À notre connaissance, aucune étude antérieure n'a été réalisée sur la graine de *Griffonia simplicifolia* en vue d'apprécier ses éventuel effet contre le stress thermique chez la volaille ; d'où l'originalité de notre travail. Des études antérieures réalisées par Novidzro et al. (2019 a ; 2019 b ; 2019 c) ont montré que la graine de *Griffonia simplicifolia* contient de la matière grasse jusqu'à un taux de $30,72 \pm 1,45\%$, du 5-hydroxytryptophane (5-HTP) avec une teneur de $8,11 \pm 0,25\%$, des éléments minéraux, des caroténoïdes, des chlorophylles a & b, puis des acides aminés essentiels. Au regard de ces résultats, l'hypothèse selon laquelle la graine de *Griffonia simplicifolia* pourrait agir contre le stress thermique chez la volaille, est fondée.

La présente étude vise à contribuer à la sécurité alimentaire au Togo par la valorisation de la graine de *Griffonia simplicifolia* dans l'alimentation des poulets de chair afin de leur permettre de lutter contre le stress thermique.

2) Matériel et Méthodes :

2.1) Site d'élevage des coquelets

La ferme « AYODÉLÉ », de coordonnées géographiques $6^{\circ}22'15.65''N$ et $0^{\circ}58'07.35'' E$, située à Badja, un village de la préfecture de l'Avé (Togo), a servi comme site d'élevage des poulets. La température moyenne annuelle du site varie de $25^{\circ}C$ à $32^{\circ}C$, avec un taux d'humidité moyen proche de 75 %.

2.2) Matériel animal

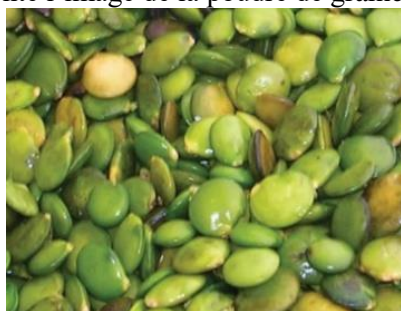
Au total 210 poussins d'un jour de souche Sasso (Figure 1) ont été utilisés dans les diverses expérimentations bioguidées, réalisées depuis le site d'élevage jusqu'au prélèvement du sang pour faire des analyses en laboratoire.



Figure 1 : Poussins Sasso en croissance à 4 semaines d'âge

2.3) Matériel végétal

Les graines de *Griffonia simplicifolia*, incorporées dans la ration alimentaire des poulets, ont été récoltées dans le jardin botanique de la Faculté des Sciences de l'Université de Lomé-Togo. La figure 2 présente l'image de la poudre de graines de *G. simplicifolia* utilisée comme additif alimentaire.



A



B

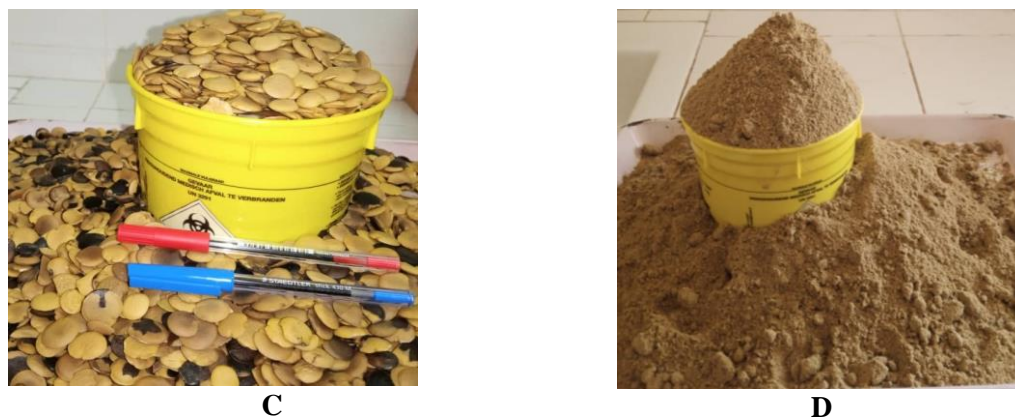


Figure 2 : Photos montrant : les graines vertes (A) ; les graines sèches (B) ; graines sèches décortiquées et la poudre (D) obtenue par broyage des graines sèches décortiquées de *Griffonia simplicifolia*

2.4) Aliment utilisé pour l'élevage des poulets

Le tableau 1 présente les différents constituants de l'aliment utilisé pour nourrir les poulets.

Tableau 1 : Composition de l'aliment pour l'élevage des poulets

Ingrédients	Phase démarrage	Phase croissance
Mais (%)	51,2	62,2
Son Cubé (%)	16,0	10,0
Soja torréfié (%)	25,0	23,0
Drèche (%)	0,0	0,0
Lysine (%)	0,3	0,3
Méthionine (%)	0,3	0,2
Concentré Chair (%)	5,0	2,0
Coquille (%)	2,0	2,0
Sel (%)	0,2	0,0
Composition nutritionnelle		
Energie Métabolisable (kcal/kg)	2889,99	3015,64
Protéine brute (%)	20,33	18,16
Matière Grasse (%)	7,91	7,58
Fibre brute (%)	5,36	5,04
Calcium(%)	0,97	0,89
Phosphore(%)	0,64	0,49

2.5) Constitution des lots expérimentaux

Ce travail a été réalisé sur 210 poussins de souche Sasso à croissance lente, répartis en cinq lots. Les oiseaux des lots T2, T3 et T4 ont reçu dans leur nourriture la graine à des doses respectives de 2,5 ; 5,0 et 10,0 g de poudre/kg d'aliment. Les oiseaux du lot T0 ont servi comme témoin négatif. Ceux du lot T1, considérés comme témoin positif, ont été nourris avec 0,5 g de poudre d'aspirine/kg d'aliment.

Au cours des douze (12) semaines d'expérimentation, les sujets ont reçu l'eau et l'aliment à volonté. Avant d'être distribué, l'aliment a été pesé. A la fin de chaque semaine, les sujets et l'aliment restant ont été pesés. Le plan prophylactique établi dans le tableau 2 a été utilisé. Durant toute l'expérimentation, les mortalités ont été dénombrées puis enregistrées quotidiennement.

Tableau 2 : Plan de prophylaxie appliqué aux poulets en élevage

Age (en jours)	Traitements réalisé	Voie d'Administration
J2	Vaccin Newcastle + Bronchite infectieuse	Trempage de bec
J3	Vaccin Gumboro	Trempage de bec
J4 - J7	Vitamine	Orale
J9	Vaccin Newcastle + Bronchite infectieuse	Orale
J10	Vaccin Gumboro	Orale
J16, J17 et J18	Antibiotique vitaminé	Orale
J19	Vaccin Newcastle+ Bronchite infectieuse	Orale
J20	Vaccin Gumboro	Orale
J21, J22 et J23	Amprol + Vitamine	Orale
J30	Vaccin Newcastle + Bronchite infectieuse	Orale
J31	Vaccin Gumboro	Orale
J32	Transfère de la poussinière en poulailler	
J32-J34	Vitamine	Orale
J35, J36 et J37	Antibiotique vitaminé	Orale
J38, J39 et J40	Antibiotique vitaminé	Orale
J41	Déparasitage interne	Orale
J42	Variole aviaire + Ita News	Injection
J55, J56 et J57	Antibiotique vitaminé	Orale
J58, J59 et J60	Amprol + Vitamine	Orale
J71	Déparasitage interne	Orale

2.6) Détermination des paramètres zootechniques

L'évaluation de la consommation alimentaire ainsi que les pesées des sujets ont permis de

❖ **Consommation alimentaire individuelle journalière CAJ(g)** : Elle a été exprimée à l'aide de la formule 1.

$$CAJ(g) = \frac{\text{Quantité d'aliment distribué} - \text{Quantité d'aliment restant}}{\text{Nombre de sujet} \times 7} \quad (\text{Formule 1})$$

❖ **Poids moyen hebdomadaire PMH(g)** : Il a été calculé à partir de la formule 2.

$$PMH(g) = \frac{\text{Somme des Poids des poussins}}{\text{Nombre total des poussins pesés}} \quad (\text{Formule 2})$$

❖ **Gain Moyen Quotidien GMH (g)** : Il est déterminé à base de la formule 3.

$$GMQ = \frac{PMVH(i+1)(g) - PMVH(i)(g)}{7} \quad (\text{Formule 3})$$

Avec : i variant de 0 à 12 semaines.

❖ **Indice de consommation IC** : L'indice de consommation (IC) a été déterminé en divisant la consommation alimentaire individuelle journalière (CAJ) par le gain moyen quotidien (GMQ) selon la formule 4.

$$IC = \frac{CAJ}{GMQ} \quad (\text{Formule 4})$$

2.7) Etudes phytochimiques sur la graine de *G. simplicifolia*

❖ **Extraction de la poudre de graine de *G. simplicifolia***

Deux types d'extraction par macération soit dans l'eau ou soit dans un mélange hydrométhanolique (50%-50%) pendant 48 h, ont été adoptés à partir des tourteaux récupérés après délipidation par la méthode au Soxhlet de la poudre de graine avec l'hexane.

❖ **Analyses phytochimiques qualitatives**

Les constituants phytochimiques tels que : les alcaloïdes, les tanins, les coumarines, les glucides totaux, les sucres réducteurs, les glycosides cardiaques, et les terpénoïdes ont été mis en évidence par des tests de coloration et ou de précipitations (Tiwari *et al.*, 2011 ; Yadav *et al.*, 2019 ; Eke *et al.*, 2014) ; tandis que la recherche des saponosides a été effectuée à base du test de mousses, préalablement décrit par Tiwari *et al.* (2011), puis Eke *et al.* (2014).

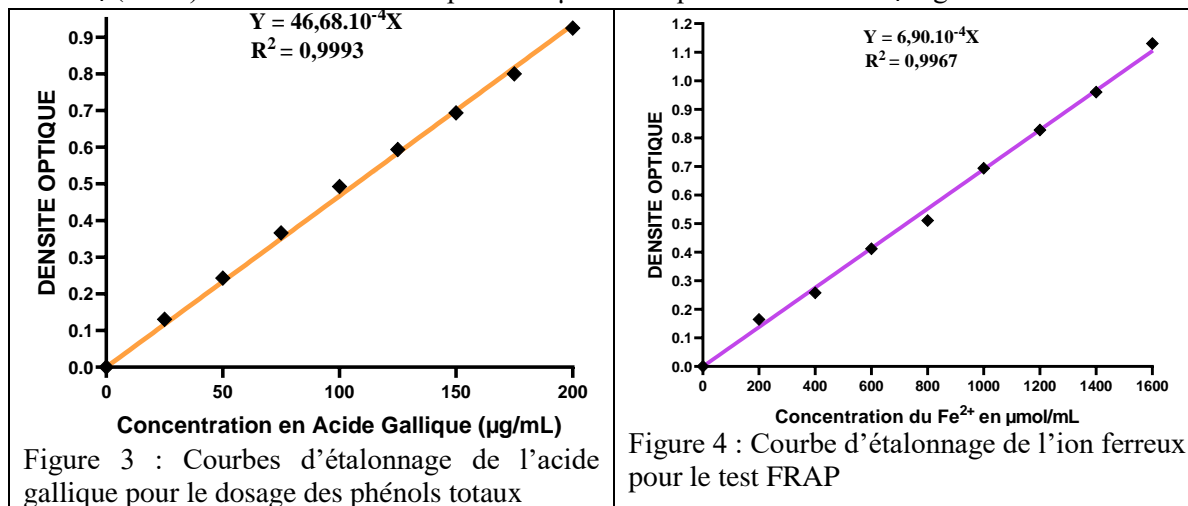
❖ **Analyse phytochimiques quantitatives**

❖ **Dosage des phénols totaux**

Les phénols totaux ont été dosés à base de la méthode spectrophotométrique UV-Visible, décrite par Singleton *et al.* (1999). La densité optique des solutions a été lue à une longueur d'onde de 760 nm. La teneur en composés phénoliques totaux a été calculée à l'aide de l'équation de la courbe d'étalonnage établie avec une solution d'acide gallique utilisée comme standard (Figure 3). Les résultats ont été exprimés en mg Equivalent d'acide gallique (EAG)/g d'extrait sec.

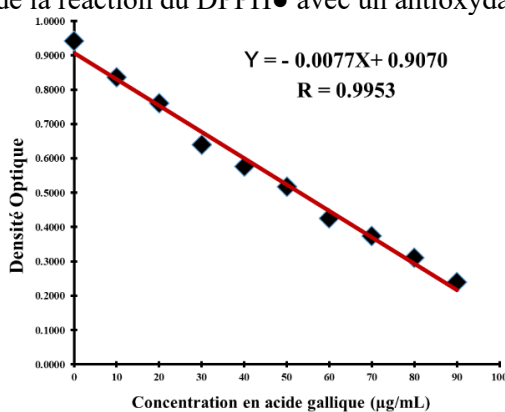
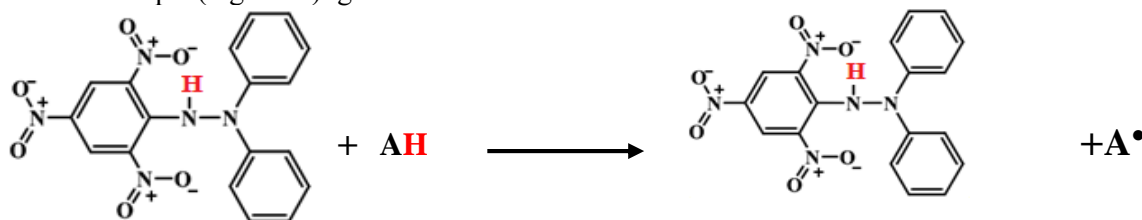
❖ **Quantification de l'activité antioxydante par le test FRAP :**

Cette analyse a été faite par la mesure spectrophotométrique UV-Visible à base du réactif FRAP, suivant les indications fournies par Benzie et Strain (1999). La densité optique a été lue à la longueur d'onde de 593 nm à l'aide du spectrophotomètre UV-Visible de marque METASH (UV-5200 PC), après 10 minutes d'incubation des échantillons. La courbe d'étalonnage (Figure 4) a été réalisée avec la solution de FeSO₄ (7H₂O) et le résultat a été exprimé en μmol d'Équivalent de FeSO₄/mg d'extrait sec.



❖ **Évaluation de l'activité antiradicalaire de l'extraits**

L'activité antiradicalaire a été évaluée par la méthode spectrophotométrique UV-Visible qui consiste à faire réagir le radical DPPH• (2,2'-Diphenyl-1-picrylhydrazyle) avec une molécule antioxydante (AH) présente dans l'extrait hydrométhanolique selon l'équation-bilan de la figure 5. Le phénomène de réduction a été suivie grâce à la mesure à la longueur d'onde de 517 nm. La courbe d'étalonnage (Figure 6) a été élaborée avec la solution d'acide gallique et les résultats ont été exprimés en mg Équivalent d'Acide Gallique (mg EAG) /g d'extraits secs.



2.8) Analyses statistiques des données

Les données collectées ont été saisis grâce au tableur EXCEL 2016 et les données ont fait l'objet d'analyses statistiques à l'aide du logiciel Graph Pad Prism 8. Le test ANOVA One Way a été appliqué pour l'appréciation des différences. Les moyennes ont été comparées avec le test de Tukey et la probabilité $P < 0,05$ a été considérée comme le seuil de significativité. Les résultats ont été présentés sous forme des moyennes plus ou moins des erreurs standards de déviation.

3) Résultats et discussion

La présente étude vise à évaluer l'action de la graine de *G. simplicifolia* sur le stress thermique et ses effets sur les performances de croissance et les paramètres physiologiques des poulets de chair à croissance lente, de souche Sasso, élevé en climat chaud.

3.1) Evolution de la température ambiante et de l'humidité relative à l'intérieure du bâtiment à différentes heures de la journée durant l'expérimentation

Les données recueillies sur le site d'élevage indiquent que la température ambiante et l'humidité relative ont variées respectivement entre 26,32°C et 31,57°C, puis entre 32,63% et 46,33% (Figure 7). L'allure des courbes relatives correspondantes montre que ces deux paramètres évoluent en sens inverse.

A propos de l'ambiance thermique, le résultat obtenu dans cette étude est similaire à celui de Hammouche (2011) qui avait obtenu des valeurs comprises entre 28,63°C et 33,07°C. Par contre, pour l'humidité relative comprise entre 32,63% et 46,33%, les valeurs mesurées sont inférieures à celles rapportées par Hammouche (2011), soit 61,82°C - 70,58 %. Cette différence pourrait s'expliquer par les disparités entre les conditions climatiques des sites d'élevage pour les deux zones d'étude. Toutefois, les caractéristiques des conditions d'ambiance thermique et hygrométrique mesurées dans le présent travail ne sont pas conformes à celles qui sont recommandées dans le guide d'élevage de la souche étudiée (Arbor, 2007).

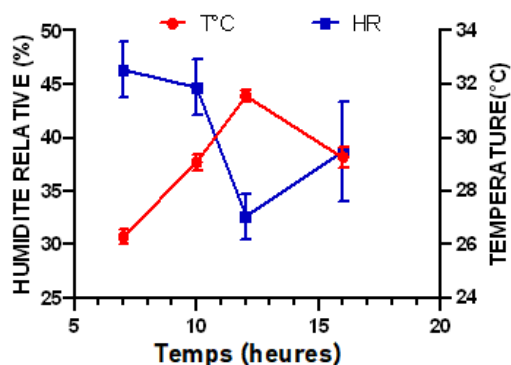


Figure 7 : Evolutions en moyenne dans la journée de la température ambiante et de l'humidité relative à l'intérieure du poulailler

3.2) Effet de la graine sur la température rectale des poulets

L'effet de la graine de *G. simplicifolia* sur la température rectale chez les poulets est représenté sur la figure 8. Au matin, aucune différence significative n'a été observée entre les sujets témoins T0 et ceux des autres lots (T1, T2, T3 et T4). Cependant, une légère diminution de la température rectale a été constatée dans l'après-midi dans les lots traités avec la poudre de graine.

Les valeurs enregistrées (Figure 8) dans la matinée ont été presque constantes, montrant ainsi que les poulets n'avaient pas été soumis à un coup de chaleur dans la matinée. Par contre la valeur relativement élevée de la température rectale chez les poulets du lot T₀, enregistrée à 12 h, soit 43,60°C, alors qu'au début de la matinée c'était 42,5°C, montre que ces derniers ont été exposés à un coup de la chaleur. Ces observations corroborent avec les données rapportées par Yahav (2009) et par De Basilio *et al.* (2001) révélant qu'un stress thermique initial, avec une exposition à 36°C pendant 24 heures provoque une élévation de la température corporelle de 1°C.

Cette réduction de la température rectale par supplémentation alimentaire avec la poudre s'expliquerait peut-être par l'effet bénéfique des phytoconstituants présents dans la graine de *G. simplicifolia*. présent travail.

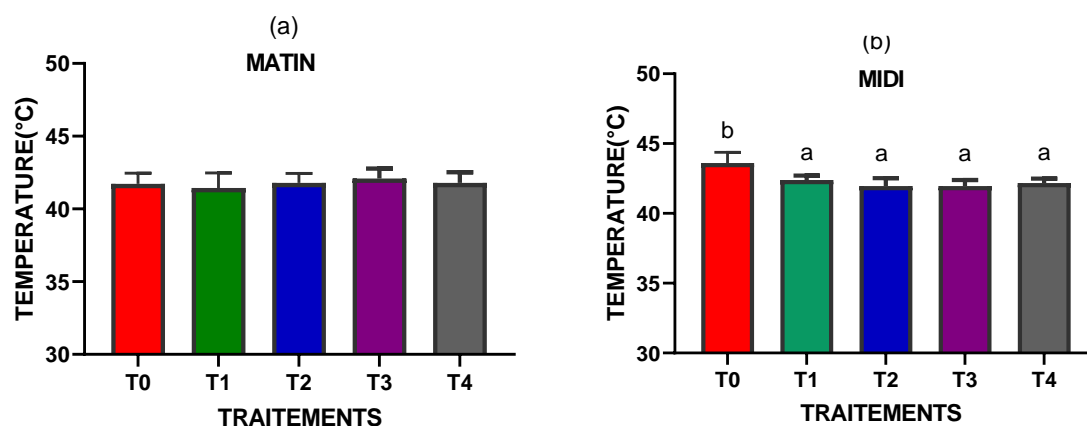


Figure 8 : Effet de la poudre sur la température rectale prise chaque matin

3.3) Résultats du screening phytochimiques des graines de *G. simplicifolia*

❖ Analyses phytochimiques qualitatives et quantitatives

Les résultats des tests phytochimiques qualitatifs réalisés sur deux types d'extraits (aqueux et hydrométhanolique) ont permis de révéler la présence d'une variété de métabolites secondaires dans la graine de *G. simplicifolia* (Tableau 6). Les teneurs en phénols totaux et en matières grasses et les valeurs des activités antiradicalaire & antioxydante de l'extrait hydrométhanolique de la graine sont présentées dans le tableau 7.

Tableau 6 : Résultats des tests phytochimiques qualitatifs de la graine de *G. simplicifolia*

Réactifs d'identification	Résultats	
	Extraits aqueux (100%)	Extraits hydrométhanolique (50%-50% : v/v)
Les alcaloïdes		
Réactif de Mayer	+	+
Réactif de Dragendorff	+	+
Les tanins		
FeCl ₃ à 1%	+	+
Pb(CH ₃ COO) ₂ à 10%	+	+
Les saponines		
Test de Mousse	+	+
Les flavonoïdes		
NaOH à 1% + HCl dilué	+	+
Les coumarines		
NaOH à 10% ; Lampe UV à 365 nm	+	+
Les sucres réducteurs		
Réactif de Molisch	+	+
Réactif de Fehling	+	+
Les glucosides cardiaques		
HCl ₃ + H ₂ SO ₄ concentré	+	+
Les terpénoïdes		
H ₂ SO ₄ (1 M)	+	+

Légende : + = présence des composés testés et - = absence des composés testés

Tableau 7 : Teneur en phénols totaux et activités antiradicalaire & antioxydante des graines de *G. simplicifolia*

Paramètres phytochimiques quantifiés	Extraits hydrométhanoliques (50% - 50% : V/V)
Phénols totaux (mg EAG/g d'extraits secs) <i>Réactif de Folin Ciocalteu</i>	189,39 ± 3,35
Activité antioxydante (µmol Eq FeSO ₄ /g d'extrait sec) <i>Réactif du test FRAP</i>	2 135,75 ± 15,99
Activité antiradicalaire (mg EAG/g d'extraits secs) <i>Réactif de DPPH*</i>	155,06 ± 2,54 ^a 186,82 ± 3,01 ^b 205,91 ± 6,11 ^c
Matière grasse (%) <i>Extraction au Soxhlet avec l'hexane</i>	27,40 ± 2,49

Les analyses phytochimiques réalisées (Tableaux 6 et 7) révèlent que la graine contient divers groupes chimiques tels que alcaloïdes, tanins, flavonoïdes, saponines, coumarines, sucres réducteurs, glucosides cardiaques, terpénoïdes et matières grasses. Parmi ces biomolécules mises en évidence dans la graine, les composés phénoliques comme les tanins, les flavonoïdes et les coumarines sont très réputées pour leurs capacités antioxydante et antiradicalaire, permettant aux poulets de lutter contre les stress d'origines diverses, y compris le stress thermique. En plus des composés phénoliques, la graine contient aussi d'autres substances naturelles d'intérêt similaire. Par exemple, elle contient une teneur appréciable en caroténoïdes et du 5-hydroxytryptophane (5-HTP) avec un taux de $8.11 \pm 0.25\%$ (Novidzro *et al.*, 2019b). En effet, il a été révélé que la molécule du 5-HTP est un précurseur de la sérotonine, une hormone dont l'action intervient dans la réduction du stress chez des personnes souffrantes de la dépression et de l'anxiété (Lemaire et Adosraku, 2002). En outre selon les travaux réalisés par Novidzro *et al.* (2019b), la graine renferme également une grande quantité en acide linoléique avec un taux de 73,19 % par rapport aux matières grasses totales. Il serait possible que cet acide insaturé soit capable de s'impliquer dans la réduction de température corporelle des poulets.

L'action de l'aspirine révélée dans le présent travail est comparable à celui de Glick (1963) qui avait observé que lorsque les oiseaux étaient soumis à un stress thermique à 40,6 °C, l'ajout d'aspirine dans leur alimentation à des taux de 0,15% ; 0,30 % et 0,60% avait permis une diminution de leur température corporelle de 0,4°C ; 1,2°C et 0,6°C, respectivement.

3.4) Effet de la graine sur la consommation alimentaire des poulets

L'impact de la graine par rapport aux témoins sur la consommation alimentaire des poulets Sasso est illustré sur la figure 9. Une diminution significative ($p < 0,05$) de la consommation alimentaire a été notée dans les lots T1, T3 et T4 en comparaison les lots T0 et T2.

Tous les poulets traités sauf ceux du lot T2 ont présenté un niveau de consommation alimentaire plus faibles ($p < 0,05$) par comparaison au lot T0 (Figure 9). Ces résultats concordent avec ceux de Kassim et Norziha (1995), mais sont en contradiction avec les travaux menés par Ndam (2007) ayant abouti au constat selon lequel les sujets traités avec du Volilyt+ avaient présenté une ingestion alimentaire plus élevée par comparaison au sujets témoins. Les poulets du lot T1 qui avaient reçu l'aspirine dans leur alimentation ont exhibé un niveau de consommation le plus faible ($p < 0,05$). Ce constat est en accord avec les travaux de Reid *et al.* (1964) ayant montré la réduction de la consommation alimentaire des oiseaux traités avec l'aspirine.

3.5) Effet de la graine sur le poids vif moyen des poulets

Le poids vif moyen des poulets a évolué en fonction du temps et dépendamment des divers traitements reçus par les poulets Sasso (Figure 10).

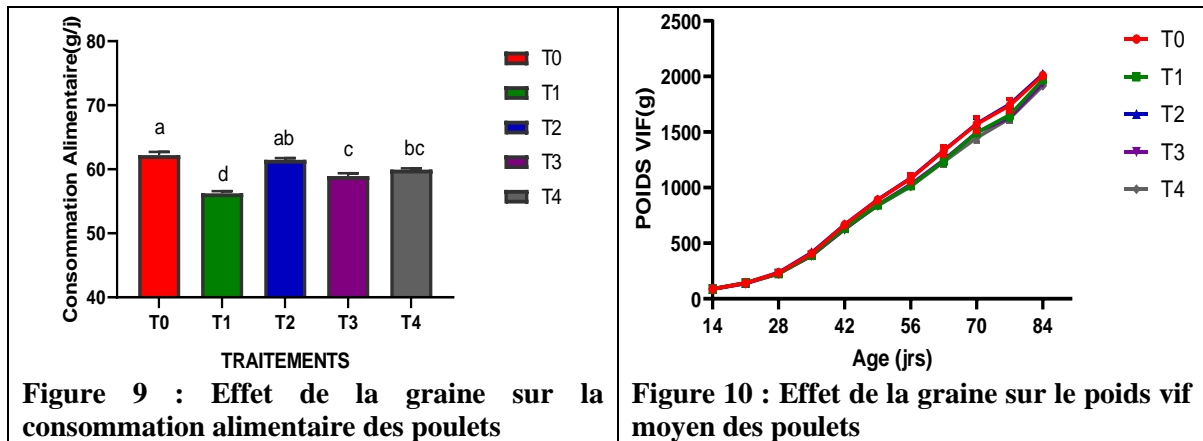


Figure 9 : Effet de la graine sur la consommation alimentaire des poulets

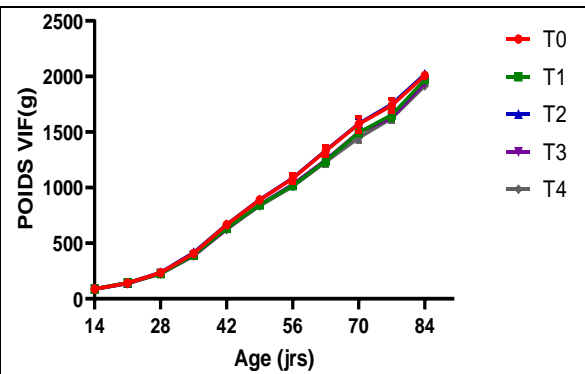


Figure 10 : Effet de la graine sur le poids vif moyen des poulets

Globalement, une augmentation progressive de la valeur du poids vif moyen des poulets pour chaque lot a été observée durant la période d'élevage. Cependant, il a été remarqué vers la fin de l'expérimentation que les poulets des lots T2 et T0 ont présenté de façon significative les valeurs du poids vif les plus élevées ($P < 0,05$). Les poulets des lots T0 et T2 ont fourni un gain de poids le plus élevé (Figure 10), se traduisant ainsi par leur niveau de consommation plus élevé. Fatou (2012) avait aussi fait la même remarque à l'issue de ses travaux de recherche. Un plus faible gain de poids a été noté au niveau des poulets du lot T1 traités avec l'aspirine (Figure 10). Ce constat diffère de celui de Stillborn *et al.* (1987) qui avaient effectivement montré que la supplémentation en aspirine n'a pas provoqué une différence notable entre les sujets traités et les témoins.

3.6) Effet de la graine sur le gain moyen quotidien des poulets

La figure 11 présente sur l'effet de la graine sur le gain moyen quotidien chez les poulets Sasso. Comparativement aux lots T0 et T2, le gain moyen quotidien a diminué significativement ($P < 0,05$) dans les lots T3, T4 et T1. Les poulets des lots T1, T3 et T4 ont présenté un gain moyen plus intéressant que les autres (T0 et T2), grâce aux effets d'ajout d'aspirine ou de graine de *G. simplicifolia* à la dose supérieures ou égale à 5,0 g de poudre par kg d'aliment (Figure 11).

3.7) Effet de la graine sur l'indice de consommation des poulets

L'influence de la graine sur l'indice de consommation des poulets est représentée sur la figure 12. L'indice de consommation alimentaire est presque similaire dans tous les lots, sauf le lot T1 qui a présenté une valeur significativement plus faible ($p < 0,05$). Les poulets du lot T1 se particularisent par un indice de consommation plus bas par rapport aux autres lots étudiés pour lesquels les valeurs sont presque similaires (Figure 12). Ces résultats sont incompatibles avec celui de Ndam (2007) annonçant que l'indice de consommation est plutôt plus élevé chez les sujets traités que chez les témoins. Par contre, c'est le même constat qui avait fait chez Kassim et Norziha (1995).

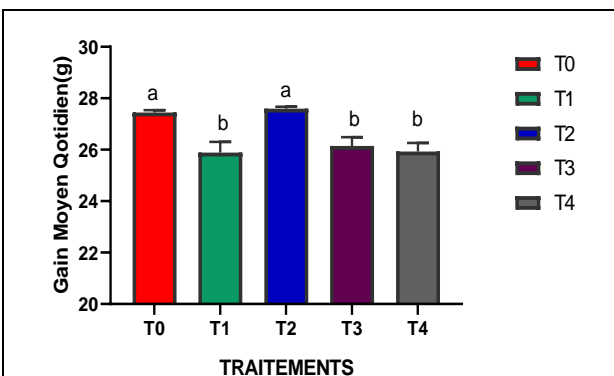


Figure 5 : Effet de la poudre sur le gain moyen quotidien des poulets

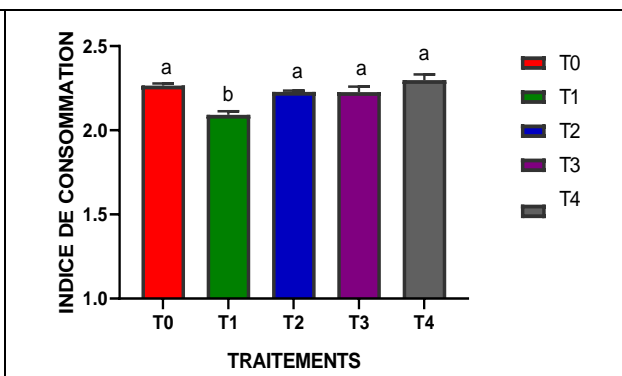


Figure 6: Effet de la graine sur l'indice de consommation des poulets

3.8) Effet de la graine sur le taux de mortalité des poulets Sasso

Les données compilées sur cette figure 13 montrent qu'il n'y aucune différence significative entre les lots T0, T1 et T3 qui ont présenté valeurs plus élevées en comparaison avec celles des lots T2 et T4, pratiquement semblables.

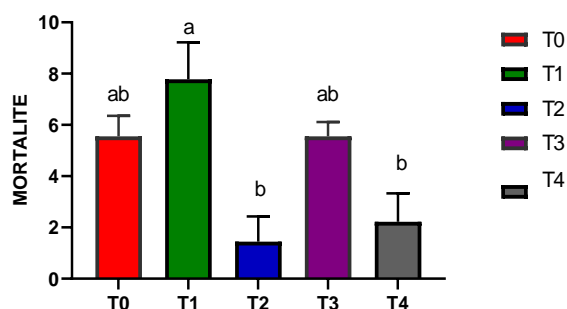


Figure 7 : Effet de la poudre sur le taux de mortalité des poulets

Les poulets du lot T2 se sont caractérisés par des valeurs finales du poids vif plus élevées ($p < 0,05$), tandis que ceux des lots T1, T3 et T4 ont donné des valeurs similaires à celle de T0. L'introduction de 2,5 g graine /kg d'aliment a permis d'induire la meilleure croissance pour les poulets de chair (lot T2). Plusieurs hypothèses peuvent être émises pour expliquer ce phénomène. En effet, l'action bénéfique du 5-HTP de même que les composés phénoliques et les matières grasses contenus dans la graine sont autant de facteurs endogènes à évoquer pour interpréter l'évolution du poids vif.

Le taux de mortalité des poulets a été plus élevé dans le lot T1 et plus bas dans le lot T₂ (Figure 13). La graine exhiberait donc l'avantage de limiter le taux de mortalité des poulets grâce à la synergie d'action entre le 5-HTP, les composés phénoliques et les caroténoïdes. Il y a lieu de constater que la mortalité a été plus élevée dans le lot T3 par rapport au lot T4 ; ce qui laisse à supposer qu'il existerait un autre facteur non élucidé dans cette étude qui a empêché la survie des poulets du lot T3.

Conclusion et perspectives

In fine, la graine de *Griffonia simplicifolia* peut servir comme une alternative intéressante pour combattre le stress thermique chez poulets étudiées. Des investigations complémentaires sont également nécessaires pour déterminer les effets de la graine sur les paramètres hématologiques des poulets.

Références bibliographiques

- Arbor A. Breeder management guide, 2007; 64p.
- Assoti E, Agbodan KA, Dotse K and Koumaglo KH. Comparative study of the antioxidant properties of essential oils of thymus vulgaris and ocimum gratissimum, two plants of the lamiaceae family. International Journal of Current Research. 2019; 11 (07) : 5772-5778.
- Benzie IF, Strain J. Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. Methods in Enzymology. 1999; 29(1):15 - 27.
- De Basilio V, Vilari M, Yahav S, Picard M. Early age thermal conditioning and a dual feeding program for male broilers challenged by heat stress. Poultry Science. 2001; 82(8): 1235 – 1241.
- Eke ON, Augustine AU Ibrahim HF. Qualitative Analysis of Phytochemical and Antibacterial Screening Extracts of Carica papaya Fruits and Seeds. International Journal of Modern Chemistry. 2014; 6(1):4856.
- Fatou DM. Lutte contre le stress thermique chez le poulet de chair élevé dans les conditions estivales de la région périurbaine de Dakar (Sénégal), par une régulation de l'apport énergétique alimentaire. Thèse de Doctorat en Sciences Et Médecine Vétérinaires, Dakar, Sénégal, 2012 ; 117p.
- Glick, B. 1963 Research reports. Feedstuffs, 35: 14.
- Hammouche D. Impact de la technique d'acclimatation précoce et du retrait alimentaire sur l'utilisation digestive des nutriments par le poulet de chair élevé en conditions chaudes. Mémoire en Agronomie, Sciences Animales, Ecole Nationale Supérieure Agronomique El-harrach - Alger, Algérie. 2011; 116p.
- Hassan SM, Mady ME, Cartwright AL, Sabri HM, Mobarak MS. Effect of acetyl salicylic in drinking water on reproductive performance in Japanese Quail (*Coturnix coturnix japonica*). Poultry Science. 2003; 82(7): 1174 - 1180.
- Kassim H, Norziha I. Effects of acid ascorbic acid (vitamin C) supplementation in layer and broiler diets in the tropics. American Junior Academy of Science. 1995 ; 8(6): 607 – 610.

- Lemaire PA, Adosraku RK. An HPLC method for the direct assay of the serotonin precursor, 5-hydroxytryptophan, in seeds of *Griffonia simplicifolia*: Phytochemical Analysis. 2002; 13(6): 333 - 337.
- Missohou A. Rapport : conférence électronique sur l'aviculture en Afrique. 2008.
- Ndam M. Utilisation du volilyt + dans la lutte contre la chaleur chez les poulets de chair et l'amélioration de leurs performances zootechniques, Mémoire de thèse, Ecole- Inter- Etats des sciences et Médecine Vétérinaire, Dakar, Senegal ; 2007, 91p.
- Novidzro KM, Melila M, Wokpor K, Koudouvo K, Dotse K, Koumaglo KH, Osseyi E. Etude de quelques paramètres physicochimiques et criblage des éléments minéraux, des pigments chlorophylliens et caroténoïdes de l'huile de graine de *Griffonia simplicifolia*. International Journal of Biological and Chemical Sciences. 2019a; 13(4): 2360 – 2373.
- Novidzro KM, Melila M, Wokpor K, Dotse K, Koumaglo KH, Osseyi E. Fatty Acids Composition of the Oil, and Quantification of 5-HTP, Chlorophylls (A & B) and Total Carotenoids of *Griffonia simplicifolia* seeds. Journal Pharmacognosy and Phytochemistry. 2019b; 8(6): 104 -114.
- Novidzro Kosi Mawuéna, MELILA Mamatchi, KOUDOUVO Koffi, WOKPOR Kodjo, DOTSE Kokouvi, KOUMAGLO Kossi Honoré, OSSEYI Elolo: Phytochemical screening, minerals determination and identification of some essential amino acids of *Griffonia simplicifolia* seeds. Int. J. Green Herb. Chem. 2019c; 8(4): 411-423. DOI: 10.24214/IJGHC/GC/8/4/4112. Available online at: www.ijghc.com
- Picard M, Sauveur B, Fenardji F, Angulo L, Mongin P. Ajustements technico-économiques possible de l'alimentation des volailles dans les pays chauds. INRA Production Animale. 1993 ; 6(2): 87 - 103.
- Rao RSV, Nagalakshmi D, Reddy VR. Feeding to minimize heat stress. Poultry Science. 2002; 41(7): 396 – 398.
- Reid BL, Kurnick AA, Thomas JM, Hulet BJ. Effet de l'AAS et de l'oxy-tétracycline sur les performances des reproducteurs blancs de Leghorn et des poulets de chair. Sciences avicoles. 1964 ; 43 : 880-84.
- Sahin K, Smith O, Onderci M, Sahin N, Gursu MF, Kucuk O. Supplementation of zing from organic or inorganic source improves performance and antioxidant status of heat-distressed quail. Poultry Sciences. 2005; 84(6): 882 - 887.
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós, RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. American Journal of Enology and Viticulture. 1999; 25(119), 152 - 179.
- Stillborn H, Harris G, Bottje W, Waldroup P. Use of ascorbic acid and acetylsalicylic acid (aspirin) in the diet of broilers maintained under heat stress condition. Poultry Science. 1987; 67(8): 1183 - 1187
- Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H. Phytochemical Screening and Extraction: A review. Internationale Pharmaceutica Scientia. 2011; 1(1): 98 – 106.
- Togofirst: 2018. <https://www.togofirst.com/fr/agro/1210-6402-les-ambitions-de-lome-pour-la-filiere-avicole>.
- Yadav VK, Irchhiaya R, Ghosh AK. Phytochemical and Pharmacognostical studies of *Anogeissus acuminata*. Journal of Drug Delivery and Therapeutics. 2019; 9(4): 450 – 457.
- Yahav S. Alleviating heat stress in domestic fowl: different strategies. World's Poultry Science Journal. 2009; 65(4): 719 – 732.
- Zulkifli I, Che Norma MT, Israf DA, Omar AR. The effect of early-age food restriction on heat shock protein response in heat-stressed female broilers chickens. British Poultry Science. 2002; 43(1), 141– 145.

Capacité antioxydante et composition phytochimique de trois plantes médicinales récoltées au Mali

Donatien Koné¹, Oumar Touré¹, Mamadou A. Konaré², Moussa Sidibé¹, Zoumana S. Traoré³

- ¹ : Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles (LCSN) - Faculté des Sciences et Techniques- Université des Sciences des Techniques et des Technologies de Bamako, BPE : E 3206-Bamako (Mali)

- ² : Laboratoire des plantes, de biochimie et de biotechnologie alimentaires, Faculté des Sciences et Techniques-Université des Sciences des Techniques et des Technologies de Bamako, BPE : E 3206 -Bamako (Mali)

Résumé

Le but de ces travaux était d'investiguer les extraits hydrométhanoliques de trois plantes : *Anogeissus leiocarpus*, *Cissus populnea* et *Terminalia macroptera* en évaluant l'activité antioxydante, les teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux et la composition phytochimique. L'extraction a été assistée par bain ultrason. Les teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux ont été déterminées par la méthode spectrophotométrique. L'activité antioxydante a été réalisée par le piégeage des radicaux 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) et ceux de l'acide 2,2-Azino-bis (-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique (ABTS) et la composition phytochimique, par chromatographie liquide haute performance (CLHP). Les teneurs obtenues en polyphénols totaux variaient entre 223,13 et 13,87 mg EAG/g et celles des flavonoïdes totaux, entre 38,90 et 10,93 mg EC/g de lyophilisat. Quant à la capacité antioxydante, elle variait de 361,60 à 27,87 mg VCE/g dans le test de DDPH et entre 468,80 et 36,67 mg VCE/g dans le test d'ABTS. Ce potentiel antioxydant pourrait expliquer l'usage de ces plantes dans la médecine traditionnelle. La CLHP a permis d'identifier les acides gallique, protocatéchique, chlorogénique, paracoumarique. Il conviendrait d'isoler et d'identifier les structures chimiques des autres antioxydants naturels non identifiés par CLHP.

Mots clés : Plantes, capacité antioxydante, identification.

Antioxidant capacity and phytochemical composition of three medicinal plants harvested in Mali

Abstract

The aim of this work was to investigate the hydromethanolic extracts of three plants: *Anogeissus leiocarpus* (leaves, trunk bark), *Cissus populnea* (roots, root bark) and *Terminalia macroptera* (trunk bark, root bark) by evaluating the antioxidant activity, the contents of total polyphenols and flavonoids and the phytochemical composition. The extraction was assisted by ultrasound bath. The contents of total polyphenols and flavonoids were determined by spectrophotometric method. Antioxidant activity was achieved by scavenging of 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radicals and those of 2,2-Azino-bis(-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) and the phytochemical composition, by high performance liquid chromatography (HPLC). The obtained contents of total polyphenols varied between 223.13 and 13.87 mg AGE/g and those of total flavonoids, between 38.90 and 10.93 mg CE/g. As for the antioxidant capacity, it varied from 361.60 to 27.87 mg VCE/g in the DDPH test and between 468.80 and 36.67 mg VCE/g in the ABTS test. Antioxidant potential could explain the use of these plants in traditional medicine. HPLC has identified gallic, protocatechic, chlorogenic, paracoumaric acids. It would be appropriate to isolate and identify the chemical structures of other natural antioxidants not identified by HPLC

Keywords: Plants, Antioxidant capacity, identification

Introduction

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), près de 70 à 80% de la population mondiale dépend des plantes comme sources de soins de santé primaires. L'importance médicinale de ces plantes réside dans la présence d'une grande variété de métabolites secondaires, tels que les composés phénoliques, les alcaloïdes, les flavonoïdes et les terpénoïdes. Ces métabolites naturels offrent des opportunités illimitées pour de nouvelles pistes de médicaments (Al-Tohamy *et al.*, 2018).

Le stress oxydatif induit par les espèces réactives de l'oxygène est la principale cause de diverses maladies dégénératives telles que les ulcères gastriques, le cancer, l'athérosclérose et d'autres conditions. Les plantes médicinales sont la source de nombreux antioxydants agissant comme des pièges actifs des espèces réactives de l'oxygène. Récemment, l'intérêt s'est porté sur les antioxydants provenant de sources naturelles pour palier aux effets secondaires des antioxydants synthétiques (Al-Tohamy *et al.*, 2018). Ainsi l'exploration et les tests de la présence d'antioxydants ont connu un développement remarquable à travers de nombreuses plantes. ▬

C'est pourquoi ce travail s'est intéressé à l'étude de trois plantes récoltées au Mali qui sont : *Anogeissus leiocarpus*, *Cissus populnea* et *Terminalia macroptera*.

Anogeissus leiocarpus (DC.) Guill. Et Perrot. (*Combrétacée*) est un arbre atteignant 30 m de haut avec écorce grise, jaunâtre, écailleuse, devenant noirâtre avec l'âge, à tranche jaune flammée, exsudant une gomme foncée et présentant des rameaux fins et retombants (Von Maydell 1983). *A. leiocarpus* s'étend du Sénégal au Cameroun jusqu'en Ethiopie, peut former des peuplements purs. La plante serait indiquée dans le traitement d'un certain nombre de maladies telles que bilharziose urinaire, dysenterie amibienne, paludisme, brûlures, douleur, trypanosomiase et des helminthiases (Malgras, 1992 ; Inngjerdingen et al, 2004 ; Laurent et al, 2004 ; Bah et al., 2006). La présence de polyphénols et de triterpènes y est signalée (Chaabi et al., 2008).

Cissus populnea Guill. et Perr. (*Vitaceae*) : Liane à vrilles ramifiées de 8 à 10 m de haut souvent à tige annuelle se desséchant durant la saison sèche, recouvrant les arbres dans lesquels elle est accrochée. Ecorce crème et lisse à l'état jeune puis grise et écailleuse, se desquamant par écailles fibreuses sur les pieds âgés, à tranche orange en surface et jaunâtre dessous. Rameau finement pubescent devenant glabre, vert (Arbonnier, 2002). *C. populnea* se rencontre à travers la région côtière de la forêt boisée soudanienne et sahélienne du Sénégal et du Nigeria, en travers l'Afrique (Burkill, 2000). La plante est indiquée dans le traitement de l'œdème, de la douleur intestinale, des plaies, des affections oculaires et de l'hypertension (Burkill, 2000 ; Inngjerdingen et al, 2004). Du point de vue phytochimique, la plante renfermerait des mucilages, des anthraquinones et des saponines (Moody et al., 2003)

Terminalia macroptera Guill. et Perrott (*Combretaceae*) : C'est un arbre de 10 à 12 m de haut au fût trapu, court à écorce noirâtre profondément striée, fissurée, à cime dense ovoïde. Très répandu en Afrique, du Sénégal à l'Ouganda (Maydell, 1983). *T. macroptera* est indiqué dans le traitement de plusieurs affections et pour un certain nombre de propriétés comme : aphrodisiaque, dépression, dépuratives, diurétiques, hypertension, ictère, diabète, douleur dentaire, dysenterie, gingivites, hémorroïdes (Maydell, 1983 ; Malgras, 1992 ; Burkill, 1985). La plante contient des triterpènes, des tanins, des flavonoïdes (Conrad et al., 1998 ; Silva et al 2000 ; Conrad et al., 2001).

Ce présent travail a été initié en vue d'évaluer l'activité antioxydante et d'identifier les composés polyphénoliques de ces trois espèces médicinales.

Matériel et méthodes

Matériel végétal

Les plantes ont été identifiées par le service botanique du Département Médecine Traditionnelle (DMT) où des spécimens de référence ont été déposés dans son herbier comme *Anogeissus leiocarpus* (DC.) Guill. et Perrot (*Combretacées*) Réf. N° 1559, *Cissus populnea* Guill. et Perr. (*Vitidacées*) Réf. N°1368, et *Terminalia macroptera* Guill. et Perrott (*Combretacées*) Réf.N°1617. Le matériel végétal a été collecté autour du district de Bamako. Après séchage à l'ombre, chaque partie de plante a été réduite en poudre. Ces plantes et parties de plante ont été choisies sur la base des résultats d'une enquête ethnobotanique : *Anogeissus leiocarpus* (feuilles et écorces de tronc), *Cissus populnea* (écorces de racines et racines) *Terminalia macroptera* (écorces de tronc et écorces de racines).

Préparation des extraits

L'extraction a été assistée d'un bain ultrason. La poudre de plante sèche (10 g) est extraite avec 100 mL de méthanol - eau (8 : 2) pendant 20 min. Après filtration le résidu est ensuite rincé avec 50 mL de méthanol et extrait de nouveau avec 100 mL de méthanol - eau (8 : 2) dans les mêmes conditions. Après évaporation, et lyophilisation, l'extrait est gardé à 0°C avant les analyses (Koné *et al.*, 2012).

Détermination de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes totaux

La teneur en polyphénols totaux est déterminée selon la méthode de Folin-Ciocalteu. L'acide gallique est utilisé comme standard et les résultats sont exprimée en mg d'acide gallique équivalents (mg EAG / g d'extrait) (Koné *et al.*, 2012).

La teneur en flavonoïdes totaux a été réalisée selon la méthode utilisée par (Koné *et al.*, 2012). La catéchine a été utilisée comme standard et les résultats sont exprimés en milligramme équivalent de catéchine (mg EC/100 g) de plante sèche.

Détermination de la capacité antioxydante par les tests d'ABTS et de DPPH.

Test d'ABTS

La capacité antioxydante des extraits de plante est déterminée par la méthode décrite et réalisée par Koné *et al.* (2012). Les radicaux ont été générés par le chlorure du 2,2'-Azobis (2-méthylpropionamide) (AAPH). L'acide ascorbique a été utilisée comme standard et les résultats sont exprimés en milligrammes équivalent (mg VCEAC/ g).

Test de DPPH

La capacité antioxydante des extraits de plante en utilisant les radicaux DPPH est déterminée selon la méthode de Koné et al. (2012). La vitamine C (acide ascorbique) est utilisée comme composé étalon et le résultat est exprimé en mg de vitamine C équivalent (mg VCEAC) par 100 g de matière sèche.

Analyse par CLHP

La caractérisation de polyphénols ainsi que leur quantification a été réalisée par CLHP conformément à la table d'élution ci-dessous (Nakatani *et al.*, 2000).

Tableau 1 : Table d'élution des extraits en CLHP

Instants (min)	%A	%B	%C
0- 4	100	0	0
4 -10	92	8	0
10 – 22,5	0	14	86
22,5 – 27,5	0	16,5	83,5
27,5 – 50 min	0	25	75
50 – 55 min	0	80	20
55 – 60 min	100	0	0

A : 50 mM NaH₂PO₄ à pH 2,6

B : 80 % acétonitrile, 20 % A

C : 200 mM H₃PO₄ (acide phosphorique) à pH 1,5

Quant à la quantification, une droite d'étalonnage a été établie pour chaque standard.

Résultats et discussion**Teneur en polyphénols et en flavonoïdes totaux**

Les résultats sont résumés dans le **tableau 2** ci-dessous.

On constate que les plus grandes teneurs se situent dans les combrétacées dans les feuilles d'*A. leiocarpus* ($223,13 \pm 0,23$ mg EAG/g) et dans les écorces de racine de *T. macroptera* ($219,60 \pm 0,40$ mg EAG/ g). La plus faible valeur se situe dans la racine de *C. populnea* ($13,87 \pm 0,23$ mg EAG/ g). Quant à la variation de la teneur en flavonoïdes totaux, les plus grandes valeurs se trouvent dans les organes à teneurs de polyphénols plus élevées. La plus faible teneur est localisée dans les écorces de tronc d'*A. leiocarpus* ($10,30 \pm 0,30$ mg EAG/g). Des valeurs de teneur en polyphénols ont été reportées par d'autres chercheurs. Orlando *et al.* (2019) ont trouvé, en utilisant différents solvants (acétate d'éthyle, méthanol, eau) que la teneur en polyphénols varierait entre 49 ± 1 et 257 ± 3 mg EAG/g dans les feuilles et entre 207 ± 2 et 274 ± 2 mg EAG/g dans les écorces de tronc de l'espèce ivoirienne. Quant à la teneur en flavonoïdes, elle varierait entre $35,0 \pm 0,6$ et $89,0 \pm 0,2$ mg ER/g dans les feuilles et de $16,0 \pm 0,3$ à $33,0 \pm 0,2$ mg ER/g dans les écorces de tronc.

Tableau 2 : Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux

Plantes	Parties utilisées	Teneur en composés phénoliques (mg GAE/g)	Teneur en flavonoïdes totaux (mg CE)/g
<i>A. leiocarpus</i>	Feuilles	$223,13 \pm 0,23$	$38,90 \pm 1,70$
	Ecorces de tronc	$26,53 \pm 0,42$	$10,30 \pm 0,30$
<i>C. populnea</i>	Ecorces de racines	$76,40 \pm 1,13$	$27,60 \pm 1,20$
	Racines	$13,87 \pm 0,23$	$10,93 \pm 0,96$
<i>T. macroptera</i>	Ecorces de tronc	$48,47 \pm 1,27$	$14,20 \pm 1,40$
	Ecorces de racines	$219,60 \pm 0,40$	$33,13 \pm 1,30$

Motto *et al.* (2021) ont trouvé que les racines d'*A. leiocarpus* contenaient $74,5 \pm 0,003$ mg EAG/g et $42,5 \pm 0,005$ mg ER/g respectivement comme teneur en polyphénols et flavonoïdes totaux dans l'espèce togolaise. La valeur en polyphénols serait intermédiaire entre les valeurs de nos deux échantillons et la teneur en flavonoïdes, supérieure à la nôtre. Akomolafe *et al.* (2013) ont trouvé une teneur en polyphénols totaux de $17,33 \pm 00$ mg EAG/g dans les écorces de tige de *C. populnea* de l'espèce nigériane.

Activités antioxydantes

Les valeurs de l'analyse de la capacité antioxydante des différents organes des trois plantes sont résumées dans le **tableau 3** ci-dessous.

On constate que les feuilles de d'*A. leiocarpus* sont plus actives que les écorces de *T. macroptera* suivies des écorces de racines de *C. populnea* dans les deux tests. La racine de *C. populnea* serait la moins active. D'autres travaux ont indiqué que les racines de *C. populnea* ($CI_{50} = 15,72 \pm 1,20 \mu\text{g/mL}$) seraient plus actives que les écorces de *T. macroptera* ($19,90 \pm 0,70 \mu\text{g/mL}$) dans le test de DPPH (Tagne *et al.*, 2014). Par contre Akomolafe *et al.* (2013) ont trouvé que la valeur de la capacité antioxydante des écorces de tige était de $22,06 \pm 0,37 \text{ mg VCEAC}$, cette valeur est inférieure à celle de la racine dans notre étude ($27,87 \pm 0,83 \text{ mg VCEAC}$). Motto *et al.* (2021) ont enregistré une valeur de $233 \pm 1,5 \text{ mg EAA/g}$ d'extrait des racines d'*A. leiocarpus* de l'espèce togolaise dans le test DDPH ; cette valeur serait inférieure à celle obtenue dans le cas de l'espèce malienne ($271,87 \pm 3,33 \text{ VCEAC}$)

Tableau Résultats de l'activité antioxydante des trois plantes.

Tableau 3 : Activité antioxydante

Plantes	Parties utilisées	Test d'ABTS	Test de DPPH
<i>A. leiocarpus</i>	Feuilles	$350,53 \pm 5,03$	$271,87 \pm 3,33$
	Ecorces de tronc	$108,00 \pm 5,66$	$71,40 \pm 2,11$
<i>C. populnea</i>	Ecorces de racines	$119,80 \pm 4,61$	$74,67 \pm 3,72$
	Racine	$36,67 \pm 1,89$	$27,87 \pm 0,83$
<i>T. macroptera</i>	Ecorces de tronc	$141,60 \pm 2,43$	$116,4 \pm 2,43$
	Ecorces de racines	$468,80 \pm 15,24$	$361,60 \pm 23,77$

Analyse de la composition des polyphénols par CLHP

Les résultats de l'analyse HPLC confirment ceux de l'analyse colorimétrique à travers l'identification de quelques composés phénoliques (voir **tableau 4** ci-dessous). Ces résultats ont montré que les acides protocatéchique, p-coumarique, gallique et chlorogénique étaient les plus rencontrés dans les diverses parties de nos plantes ; ceci serait en accord avec les résultats de Stalikas (2007). L'acide caféique n'apparaît en quantité significative que dans le *Terminalia macroptera* (écorces de racines), et dans les feuilles d'*A. leiocarpus*. Par contre l'acide chlorogénique serait contenu dans les trois plantes. Adefegha *et al.* (2016) auraient identifié et quantifié les polyphénols dans les feuilles d'*A. leiocarpus* de l'espèce nigériane et y auraient trouvé (en mg/g) les acides suivants : gallique ($2,97 \pm 0,07$), chlorogénique ($27,19 \pm 0,04$), et caféique ($1,14 \pm 0,05$). Ces acides seraient également présents dans notre échantillon analysé.

Tableau 4 : Identification et quantification des groupes chimiques

Nom de Plante	parties de Plantes	A. Gal	A. Pr	A. Ch	A. Pc	A. Caf	Isovitexine	Quercetine-3-β-D-glucose
<i>A. leiocarpus</i>	Feuilles	$49,06 \pm 3,50$	$67,63 \pm 0,318$	$2286,08 \pm 80,58$	nd	$30,13 \pm 2,50$	nd	nd
	E. tronc	$5,14 \pm 0,21$	$35,55 \pm 0,25$	nd	$221,40 \pm 2$	nd	nd	nd
<i>C. populnea</i>	E. racines	Traces	$26,03 \pm 1,23$	$62,09 \pm 0,46C$	$4,2 \pm 0,2$	nd	nd	$70,89 \pm 0,49$
	Racines	nd	$8,41 \pm 0,18$	nd	$1,76 \pm 0,01$	nd	nd	$83,53 \pm 0,54$
<i>T. macroptera</i>	E. tronc	$16,39 \pm 2,19$	$7,93 \pm 1,34$	$67,14 \pm 2,01$	$59,37 \pm 2,20$	nd	$182,22 \pm 42$	nd
	E. racines	$69,00 \pm 1,42$	$792 \pm 7,16$	$113,40 \pm 1,41$	$1833,56 \pm 4,58$	$149,86 \pm 2,62$	nd	nd

A.Gal = acide gallique; A. pr = acide protocatéchique; A. Ch = acide chlorogénique; A. Pc. = acide paracoumarique; A. Caf. = acide caféique ; nd = non détecté ; E = écorces. Les valeurs représentent les moyennes de trois mesures \pm déviation standard et sont exprimées en mg / 100 g.

Conclusion

Cette étude a permis d'évaluer la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes, l'activité antioxydante et d'identifier les principaux groupes chimiques des espèces végétales. L'activité antioxydante a varié en fonction des organes et des espèces et était fortement corrélée avec la teneur des composés phénoliques. L'activité antiradicalaire ainsi observée pourrait justifier l'utilisation de ces plantes pour la prévention et la prise en charge de nombreuses maladies dont les cancers. L'analyse chromatographique a permis d'identifier cinq acides phénoliques et deux flavonoïdes qui seraient principalement à l'origine de l'activité antioxydante dans les parties végétales étudiées. Pour une meilleure valorisation de ces espèces végétales étudiées, il conviendrait d'isoler et d'identifier les structures chimiques des autres antioxydants naturels non identifiés par la CLHP.

Références bibliographiques

- Adefegha S.A., Oboh G., Omojokun O.S., Jimoh T.O., Oyeleye, S. I. (2016). *In vitro* antioxidant activities of African birch (*Anogeissus leiocarpus*) leaf and its effect on the α -amylase and α -glucosidase inhibitory properties of acarbose, Journal of Taibah University Medical Sciences, Volume 11, Issue 3, 236-242; <https://doi.org/10.1016/j.jtumed.2016.03.001>
- Akomolafe SF, Oboh G, Akindahunsi AA, Akinyemi AJ, Tade OG. (2013) Inhibitory Effect of Aqueous Extract of Stem Bark of *Cissus populnea* on Ferrous Sulphate- and Sodium Nitroprusside-Induced Oxidative Stress in Rat's Testes In Vitro. ISRN Pharmacol. doi: 10.1155/2013/130989.
- Arbonnier, M., (2002). Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'Ouest. 2^{ème} Edits CIRAD – UICN 574 P.
- Bah, S., Diallo, D., Dembele, S., Paulsen, B.S., (2006). Ethnopharmacological survey of plants used for the treatment of schistosomiasis in Niono District, Mali. Journal of Ethnopharmacology, **105**, 387–399.
- Burkill, H.M., 1985. Useful plants of West Tropical Africa, volume 1 second ed. Royal Botanic Gardens, Kew, London; 960 P.
- Burkill, H.M., 1997. Useful plants of West Tropical Africa, volume 4 second ed. Royal Botanic Gardens, Kew, London; 969 P.
- Burkill, H.M., 2000. Useful plants of West Tropical Africa, volume 5 second ed. Royal Botanic Gardens, Kew, London; 686 P.
- Conrad, J., Vogler, B., Klaiber, I., Roos, G., Walter, U., and Kraus, W., (1998). Two triterpene esters from *Terminalia macroptera* bark. Phytochemistry **vol. 48**; N°4, 647-650.
- Conrad, J., Vogler, B., Kleiber, I., Reeb, S., Guse, G.H., Roos, G., Kraus, W., (2001). Vanilic acid 4-O- β -D-(6'-O-galloyl) glucoside and other constituents from the bark of *Terminalia macroptera* Guill et perr. Nat. Prod lett. **15**, 35-42.
- Inngjerdingen, K., Nergard, C.S., Diallo, D., Mounkoro, P.P., Paulsen, B.S., (2004). An Ethnopharmacological survey of plants used for wounds healing in dogoland, Mali, West Africa. Journal of Ethnopharmacology **92**, 233 – 244.
- Kamatou G.P.P., Viljoen A. M., Steenkamp P. (2010). Antioxidant, antiinflammatory activities and HPLC analysis of South African *Salvia* species.
- Koné D., Diop B., Diallo D., Djilani A., and Dicko A. (2012). Identification, quantitative determination, and antioxidant properties of polyphenols of some malian medicinal plant parts used in folk medicine. Macro To Nano Spectroscopy, chapter 8, P. 131 – 142 (www.intechopen.com).
- Malgras, D., (1992). Arbres et arbustes guérisseurs des savanes maliennes. Edits Karthala et ACCT, Paris, 474 P.
- Moody, J.O., Ojo, O.O., Omotade, O.O., Adeyamo, A.A., Olumese, P.E., and Ogundipe, O.O., (2003). Antisickling potential of a Nigeria Herbal Formula (Ajawaron HF) and the major plant compound (*Cissus populnea* L. CPK); phytotherapy research **17**, 1173-1176.
- Motto AE, Lawson-Evi P, Bakoma B, Eklu-Gadegboku K, Aklikokou K. (2021) Antihyperlipidemic and antioxidant properties of hydro-alcoholic extracts from *Anogeissus leiocarpus* (Combretaceae). Heliyon, Apr 2;7(4):e06648. doi: 10.1016/j.heliyon.2021.e06648.
- Nakatani, N., Kayano, S., Kikuzaki, H. Sumino, K., Katagiri, K. and Mitani, T., (2000). Identification, Quantitative Determination, and Antioxidative Activities of Chlorogenic Acid Isomers in Prune (*Prunus domestica* L.) J. Agric. Food Chem., **48**, 5512-5516.
- Orlando G, Ferrante C, Zengin G, Sinan KI, Bene K, Diuzheva A, Jekó J, Cziáky Z, Simone SD, Recinella L, Chiavaroli A, Leone S, Brunetti L, Picot-Allain CMN, Mahomoodally MF, Menghini L (2019). Qualitative Chemical Characterization and Multidirectional Biological Investigation of Leaves and Bark Extracts of *Anogeissus leiocarpus* (DC.) Guill. & Perr. (Combretaceae). Antioxidants (Basel). Sep 1;8(9):343. doi: 10.3390/antiox8090343.

Purification et caractérisation chimique de dimères de stilbènes d'origine synthétique

Akissi Evariste¹, Sursin Emmanuel², Flourat Amandine², Vinet Julien², Martinez Agathe¹, Borie Nicolas¹, Peyrot Cedric², Courot Eric³, Nuzillard Jean-Marc¹, Renault Jean-Hugues¹, Allais Florent² and Voutquenne-Nazabadioko Laurence¹

¹ Université de Reims Champagne-Ardenne, CNRS, ICMR 7312, 51097, SFR Cap-Santé FED 4231, 51687 Reims CEDEX 2, France

² URD Agro-Biotechnologies Industrielles (ABI), AgroParisTech, CEBB, 3 rue des Rouges Terres 51110 Pomacle, France

³ Université de Reims Champagne-Ardenne, Resistance Induite et Bioprotection des plantes (RIPB), SFR Condorcet FR CNRS 3417, UFR des Sciences Exactes et Naturelles, BP 1039, 51687 Reims CEDEX 2, France

Résumé

Les stilbènes ont reçu beaucoup d'attention au cours des deux dernières décennies suite à la découverte du resvératrol dans le vin. Depuis lors, il y a eu un nombre croissant d'articles rapportant diverses activités biologiques des stilbènes naturels. Le but de cette étude était de déterminer de manière rapide les dimères majoritaires de resvératrol non- et glycosylé à partir de mélanges de stilbènes issus respectivement de synthèse enzymatique et catalytique. Les mélanges de stilbènes ont été fractionnés par chromatographie de partage centrifuge (CPC) en utilisant une méthode de gradient d'éluion et les principaux stilbènes contenus dans les fractions ont ensuite été identifiés en utilisant une procédure de déréplication CaraMel basée sur la RMN ¹³C et d'autres analyses RMN 2D telles que HSQC, HMBC et COSY, ainsi que la spectrométrie de masse. Par la suite, les fractions ont successivement été purifiées par différentes techniques de chromatographie liquide haute performance (CLHP). Ainsi, nous avons pu isoler le □-viniférine, les diastéréoisomères du *E*-labruscol, le Leachianol F et G, la □viniférine, le pallidol, la scirpusine A, la □-picéid, ainsi que d'autres dimères. Tous ces composés feront l'objet de test de cytotoxicité et d'autres activités biologiques.

Mots clés : stilbènes, CPC, déréplication, CLHP

1.Introduction

Les phytostilbènes sont des métabolites spécialisés largement répandus dans le règne végétal et décrits comme des molécules protectrices de la plantes contre des agents pathogènes [4-5, 8-13]. Le resvératrol et ses dérivés se sont avérés avoir divers avantages sur la santé humaine telles que des propriétés anti-inflammatoires [3], cardioprotectrices [19], antidiabétiques [17], anti-âge [2], anti-cancéreux [1], ainsi qu'antioxydantes [6]. Plusieurs travaux antérieurs ont rapporté l'activité anti-cancéreuse du resvératrol, indiquant que cette molécule peut agir à divers stades du processus de cancérogenèse [16], ainsi que son pouvoir anti-vieillesse exceptionnel lui valant son usage en cosmétique. De plus, l'activité biologique de certains dérivés du resvératrol tels que le pallidol, l'□-viniférine et le labruscol a déjà été démontrée [14-15].

En raison des limites de préparation du resvératrol et de ses dérivés en grandes quantités en utilisant des procédures conventionnelles d'extraction de plantes, la synthèse enzymatique et catalytique représente une technique utile pour la production à grande échelle de stilbènes.

Nous rapportons ici l'identification de manière rapide de divers phytostilbènes issus de synthèse enzymatique et catalytique par une méthode de déréplication basée sur la RMN ¹³C [7, 18] et d'autres analyses RMN 2D telles que HSQC, HMBC et COSY, ainsi que la spectrométrie de masse. Ensuite, les fractions ont successivement été purifiées pour évaluer leur activité biologique.

Procédure expérimentale

Matériel

La chromatographie liquide préparative (CLP) a été réalisée sur une chaîne Gilson PLC 2050 équipé du logiciel Gilson Glider, d'une pompe Armen et d'un détecteur UV Ecom, en utilisant une colonne RPC18 (Interchim uptisphere strategy C18-HQ, 5µm, 250 x 21,2 mm). La phase mobile était composée de H₂O avec TFA (0,025%)/CH₃CN avec un débit de 10 mL/min. Les chromatogrammes ont été suivis à 205, 286, 310 et 360 nm. Les expériences analytiques HPLC ont été réalisées à l'aide d'un ThermoFisher Ultimate 3000 (Thermo Fischer Scientific, Villebon sur Yvette, France), équipé d'une pompe 4 voies LPG 3400 SD, d'un injecteur automatique WPS 3000 SL, d'un détecteur à barrette de diodes UV/visible

3000 et du Chromeleon® version 6.8 du logiciel à l'aide d'une colonne InfinityLab Poroshell 120 ECC18 (4,6 x 150 mm, 2,7 Micron). La CCM a été effectuée sur du gel de silice pré-enduit 60 F254 Merck et la CCM haute résolution a été réalisée avec une chaîne CAMAG HPTLC. Les composés ont été visualisés en pulvérisant les plaques séchées avec 50 % de H₂SO₄, suivi d'un chauffage.

Procédure générale de la réaction de formation de dimères non glycosylés

Le resvératrol (2 g) a été dissous dans l'acétone puis de l'eau distillée a été ajoutée. Le milieu réactionnel est agité vigoureusement et chauffé à 45°C, puis une solution de laccase a été ajoutée en 4 heures. Deux heures après la fin de l'addition, seule une petite quantité de resvératrol résiduel a été détectée par CCM, la réaction a été stoppée par l'ajout d'une solution de HCl 1M. L'acétone a été distillée sous pression réduite. La couche aqueuse a été extraite deux fois avec de l'acétate d'éthyle. Les couches organiques ont été combinées, lavées avec de la saumure, séchées sur du MgSO₄ anhydre, filtrées et concentrées.

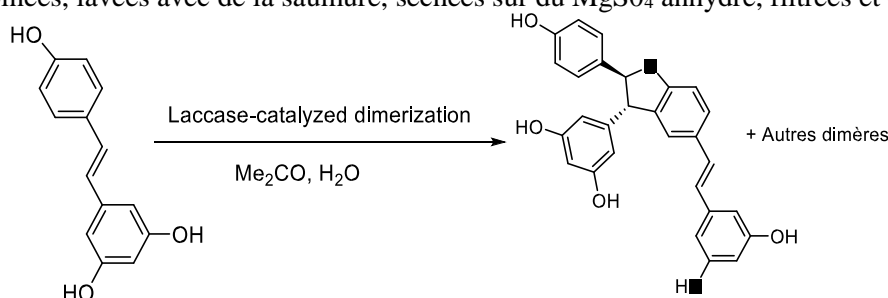


Figure 1. Schéma réactionnel des dimères de stilbènes non glycosylés.

Procédure générale de la réaction de formation de dimères glycosylés

Sur la base du protocole décrit par El Khawand pour la dimérisation du resvératrol, le couplage oxydatif du piceïd a été réalisé sur différentes quantités de piceïd (1 équiv) en utilisant de l'acétate d'argent (1,5 équiv) dans de l'éthanol pur ([piceïd] de 22 à 66 mmol/L). Le mélange réactionnel a été agité à différentes températures (entre 20 et 60 ° C) pendant 1 h. La réaction a ensuite été stoppée par refroidissement à 4°C. Le mélange a été filtré pour éliminer les résidus métalliques [20].

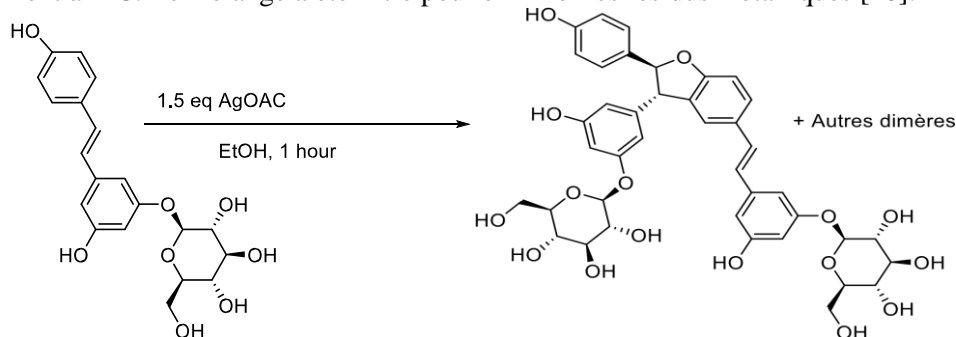


Figure 2. Schéma réactionnel des dimères de stilbènes glycosylés.

Fractionnement par CPC de dimères non glycosylés

La chromatographie de partage centrifuge (CPC) a été réalisée sur une colonne FCPC® A200+PF 5125 à l'échelle du laboratoire d'une capacité de 270 ml (Rousselet Robatel Kromaton, Annonay, France) contenant vingt et un disques de partition circulaires, gravés d'un total de 840 disques de partition ovales. cellules jumelles (~ 10 ml par cellule jumelle) et connecté à un Intersoft X. CPC est une technique de séparation sans support solide impliquant la répartition différentielle des solutés entre au moins deux phases liquides non miscibles en fonction de leur coefficient de distribution. L'extrait brut (2 g) obtenu à partir de catalyse enzymatique a été fractionné en utilisant une méthode de gradient d'élution par en mode descendant pendant 150 min. Trois systèmes de solvants biphasiques ont été préparés indépendamment en mélangeant n-heptane, EtOAc, MeOH et eau dans les proportions 2/3/2/3 (v/v) pour le système 1, 2/5/2/5 (v/v) pour système 2 et 1/4/1/4 (v/v) pour le système 3. Ces trois systèmes ont été sélectionnés afin de diminuer progressivement la polarité de la phase mobile du système 3 vers le système 1 tout en assurant le caractère biphasique du système global avec MeOH et l'eau comme constituants majeurs dans la phase inférieure. La solution d'échantillon a été préparée en dissolvant

directement l'extrait de stilbène brut (2 g) dans 12 ml d'un mélange de phase supérieure du système 2 et de phase inférieure du système 3 (75/25, v/v). La colonne CPC a été remplie avec la phase organique supérieure du système 2 à 600 tr/min. Après avoir chargé la solution d'échantillon dans la colonne à travers une boucle d'échantillon de 20 ml, la vitesse de rotation a été ajustée à 1300 tr/min et le débit a été réglé à 8 ml/min sur toute l'expérience de la colonne.

Le gradient a été réalisé en mode descendant en pompant 100% de la phase inférieure du système 3 pendant 20 min, puis cette phase a été réduite de 100% à 0% en 60 min. La phase inférieure du système 1 a été maintenue à 100 % pendant 70 min. Enfin, la colonne a été extrudée en passant du mode descendant au mode ascendant, tout en continuant à pomper 100% de la phase inférieure du système 1 à 30 mL/min. Les expériences ont été réalisées à température ambiante. Des fractions de 8 ml ont été collectées toutes les minutes et déposées sur des plaques Merck TLC recouvertes de gel de silice 60 F254 et développées avec du chloroforme/méthanol/acide acétique (83:17:3, v/v/v). Après détection à UV254 et UV366, les plaques ont été pulvérisées avec de l'acide vanilline-sulfurique et chauffées à 100° C pendant 5 min. Les fractions ont ensuite été regroupées en fonction de leurs similitudes de profil TLC et évaporées sous vide. L'identification des composés a été réalisée dans les fractions collectées à l'aide d'une procédure de déréplication basée sur la résonance magnétique nucléaire (RMN) du ¹³C .

Fractionnement par CPC de dimères glycosylés

La chromatographie de partage centrifuge (CPC) a été réalisée sur une colonne FCPC® A200+PF 5125 à l'échelle du laboratoire d'une capacité de 270 ml (Rousselet Robatel Kromaton, Annonay, France) contenant vingt et un disques de partition circulaires, gravés d'un total de 840 disques de partition ovales, cellules jumelles (~ 10 ml par cellule jumelle) et connecté à un Intersoft X. CPC est une technique de séparation sans support solide impliquant la répartition différentielle des solutés entre au moins deux phases liquides non miscibles en fonction de leur coefficient de distribution. L'extrait brut (1 g) obtenu à partir de catalyse métallique a été fractionné en utilisant une méthode de gradient d'élution par en mode descendant pendant 150 min. Deux systèmes de solvants biphasiques ont été préparés indépendamment en mélangeant MtBE, BuOH et Eau dans les proportions 50/50/0 (v/v) pour le système 1 et 35/15/50 (v/v) pour système 2. La solution d'échantillon a été préparée en dissolvant directement l'extrait de stilbène brut (1 g) dans 12 ml d'un mélange de phase inférieure du système 1 et de phase supérieure du système 1 (75/25, v/v). La colonne CPC a été remplie avec la phase inférieure du système 1 à 600 tr/min. Après avoir chargé la solution d'échantillon dans la colonne à travers une boucle d'échantillon de 20 ml, la vitesse de rotation a été ajustée à 1300 tr/min et le débit a été réglé à 8 ml/min sur toute l'expérience de la colonne. Le gradient a été réalisé en mode ascendant en pompant 100% de la phase supérieure du système 1 pendant 20 min, puis cette phase a été réduite de 100% à 0% en 60 min. La phase supérieure du système 2 a été maintenue à 100 % pendant 70 min. Enfin, la colonne a été extrudée en passant du mode ascendant au mode descendant, tout en continuant à pomper 100% de la phase supérieure du système 2 à 30 mL/min. Les expériences ont été réalisées à température ambiante. Des fractions de 8 ml ont été collectées toutes les minutes et déposées sur des plaques Merck TLC recouvertes de gel de silice 60 F₂₅₄ et développées avec du BuOH/Eau/acide formique (30:10:10, v/v/v). Après détection à UV₂₅₄ et UV₃₆₆, les plaques ont été pulvérisées avec de l'acide vanilline-sulfurique et chauffées à 100° C pendant 5 min. Les fractions ont ensuite été regroupées en fonction de leurs similitudes de profil TLC et évaporées sous vide. L'identification des composés a été réalisée dans les fractions collectées à l'aide d'une procédure de déréplication basée sur la résonance magnétique nucléaire (RMN) du ¹³C .

Procédure de la déréplication CaraMel basée sur la RMN ¹³C

Les analyses RMN des différentes fractions CPC ont été réalisées à 298 K sur un spectromètre Bruker Avance AVIII-600 (Karlsruhe, Allemagne) équipé d'une cryosonde optimisée pour la détection 1H et de bobines et préamplificateurs ¹H, ¹³C et 2D refroidis. Les spectres ont été manuellement mis en phase et corrigés à l'aide du logiciel TOPSPIN 4.7 (Bruker) et calibrés sur la résonance centrale (49,0 ppm) du méthanol deutéré. Chaque liste de pics a ensuite été convertie en un fichier texte. Les intensités absolues des pics collectés dans la série de fractions ont été alignées à l'aide d'un algorithme interne écrit en langage python. Le tableau résultant a été importé dans le logiciel PermutMatrix version 1.9.3 (LIRMM, Montpellier, France) pour une analyse de clustering sur les valeurs d'intensité maximale. Plus l'intensité des pics ¹³C-NMR est élevée, plus la couleur de la carte est brillante. En parallèle, une étude bibliographique a été réalisée afin d'obtenir des noms et des structures pour un maximum de stilbènes

déjà décrits dans la littérature. Ces métabolites ont été ajoutés à une base de données de déplacement chimique ^{13}C -NMR construite localement (logiciel ACD/NMR Workbook Suite 2012, ACD/Labs, Ontario, Canada) comprenant les déplacements chimiques et les structures d'autres produits naturels. Pour l'identification des métabolites, chaque cluster de déplacement chimique ^{13}C -NMR obtenu à partir de HCA a été soumis manuellement au moteur de recherche de structure du logiciel de gestion de base de données. Des expériences RMN 2D supplémentaires (HSQC, HMBC et COSY) ont été réalisées.

Résultats et discussion

Les mélange des stilbènes glycosylés et non-glycosylés ont été fractionnés par chromatographie de partage centrifuge, puis les composés ont été identifiés la méthode de déréplication CaraMel basée sur la RMN du ^{13}C , ainsi que certaines fractions ont été purifiées par chromatographie liquide préparative. Au total vingt-quatre stilbènes ont été élucidés (**Fig. 3**).

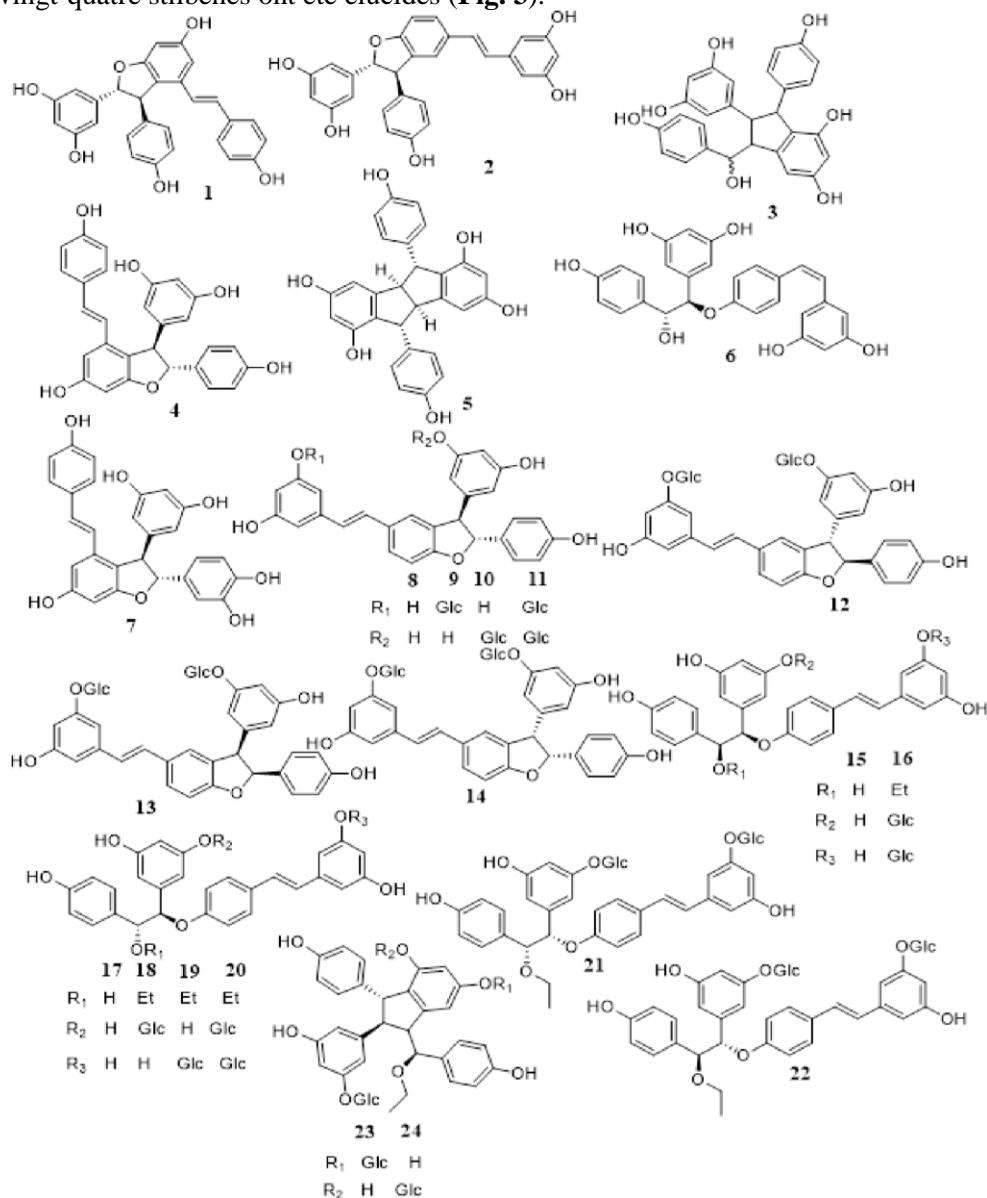


Figure 3. Structure des dimères de stilbènes non glycosylés.

Les composés précédemment décrits ont été identifiés par comparaison de leurs données spectrales avec les valeurs de la littérature comme le leachianol F et G (**3**), l' α -viniférine (**4**), le pallidol (**5**), le Zlabruscol (**6**), la scirpusine A (**7**), la β -viniférine (**8**) et les diastéréoisomères du E-labruscol (**15** et **17**) []. L'iso- α -viniférine (**1**), L'iso- β -viniférine (**2**), les diastéréoisomères de la β -viniférine mono- et diglycosylés (**9-14**), les diastéréoisomères de l'oxistilbenine mono- et diglycosylés (**16, 18-22**), le 13aO-quadrangularine B diglycosylés (**23**) et 11a-O- quadrangularine B diglycosylés (**24**) sont décrits pour la première fois à notre connaissance.

Conclusion

L'investigation chimique des mélanges de stilbènes a conduit à l'identification structurale de vingtquatre composés. Notre étude a permis de développer des méthodes chromatographiques (CPC, CCM et HPLC) pour l'analyse de ces mélanges. Les composés identifiés feront l'objet de test de cytotoxicité et d'autres activités biologiques.

Références

- [1] Aluyen, J.K.; Ton, Q.N.; Tran, T.; Yang, A.E.; Gottlieb, H.B.; Bellanger, R.A. Resveratrol: Potential as anticancer agent. *J. Diet. Suppl.* (2012) 9, 45–56.
- [2] Baxter, R.A. Anti-aging properties of resveratrol: Review and report of a potent new antioxidant skin care formulation. *J. Cosmet. Dermatol.* (2008) 7, 2–7.
- [3] Bishayee, A.; Barnes, K.F.; Bhatia, D.; Darvesh, A.S.; Carroll, R.T. Resveratrol suppresses oxidative stress and inflammatory response in diethylnitrosamine-initiated rat hepatocarcinogenesis. *Cancer Prev. Res.* (2010) 3, 753–763.
- [4] David Donnez, Kyung-Hee Kim, Sandrine Antoine, Alexandra Conreux, Vincenzo De Luca, Philippe Jeandet, Christophe Clément, Eric Courot. Bioproduction of resveratrol and viniferins by an elicited grapevine cell culture in a 2 L stirred bioreactor. *Process Biochemistry*, (2011) 46, 1056–1062. [5] Delaunois, B.; Cordelier, S.; Conreux, A.; Clément, C.; Jeandet, P. Molecular engineering of resveratrol in plants. *Plant Biotechnol. J.*, (2009) 7, 2–12.
- [6] Gülçin, I. Antioxidant properties of resveratrol: A structure-activity insight. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* (2010) 11, 210–218.
- [7] Hubert, J.; Nuzillard, J.-M.; Purson, S.; Hamzaoui, M.; Borie, N.; Reynaud, R.; Renault, J.-H. Identification of natural metabolites in mixture: A pattern recognition strategy based on ^{13}C -NMR. *Anal. Chem.* (2014) 86, 2955–2962.
- [8] Jeandet, P.; Clément, C.; Tisserant, L.-P.; Crouzet, J.; Courot, E. Use of grapevine cell cultures for the production of phytoalexins of cosmetic interest. *C. R. Chim.* (2016) 19, 1062–1070.
- [9] Jeandet, P.; Clément, C.; Courot, E. Resveratrol production at large scale using plant cell suspensions. *Eng. Life Sci.* (2014) 14, 622–632.
- [10] Jeandet, P.; Hébrard, C.; Deville, M.-A.; Cordelier, S.; Dorey, S.; Aziz, A.; Crouzet, J. Deciphering the role of phytoalexins in plant-microorganism interactions and human health. *Molecules* (2014) 19, 18033–18056.
- [11] Jeandet, P.; Clément, C.; Courot, E.; Cordelier, S. Modulation of phytoalexin biosynthesis in engineered plants for disease resistance. *Int. J. Mol. Sci.* (2013) 14, 14136–14170.
- [12] Jeandet, P.; Delaunois, B.; Aziz, A.; Donnez, D.; Vasserot, Y.; Cordelier, S.; Courot, E. Metabolic engineering of yeast and plants for the production of the biologically active hydroxystilbene, resveratrol. *J. Biomed. Biotechnol.* (2012), 2012, 579089.
- [13] Jeandet, P.; Delaunois, B.; Conreux, A.; Donnez, D.; Nuzzo, V.; Cordelier, S.; Clément, C.; Courot, E. 2010. Biosynthesis, metabolism, molecular engineering, and biological functions of stilbene phytoalexins in plants. *BioFactors*, (2009) 36, 331–341.
- [14] Laetitia Nivelles, Jane Hubert, Eric Courot, Philippe Jeandet, Aziz Aziz, Jean-Marc Nuzillard, Jean-Hugues Renault, Christophe Clément, Laurent Martiny, Dominique Delmas and Michel Tarpin. Anti-Cancer Activity of Resveratrol and Derivatives Produced by Grapevine Cell Suspensions in a 14 L Stirred Bioreactor. *Molecules*, (2017) 22, 474. doi:10.3390/molecules22030474
- [15] Laetitia Nivelles, Jane Hubert, Eric Courot, Nicolas Borie, Jean-Hugues Renault, Jean-Marc Nuzillard, Dominique Harakat, Christophe Clément, Laurent Martiny, Dominique Delmas, Philippe Jeandet and Michel Tarpin. Cytotoxicity of Labruscol, a New Resveratrol Dimer Produced by Grapevine Cell Suspensions, on Human Skin Melanoma Cancer Cell Line HT-144. *Molecules*, (2017) 22, 1940. doi:10.3390/molecules22111940
- [16] Pezzuto, J.M. Resveratrol as an Inhibitor of Carcinogenesis. *Pharm. Biol.* (2008) 46, 443–573.
- [17] Szkudelski, T.; Szkudelska, K. Resveratrol and diabetes: From animal to human studies. *Biochim. Biophys. Acta* (2015) 1852, 1145–1154.
- [18] Tisserant, L.-P.; Hubert, J.; Lequart, M.; Borie, N.; Maurin, N.; Pilard, S.; Jeandet, P.; Aziz, A.; Renault, J.-H.; Nuzillard, J.-M.; et al. ^{13}C -NMR and LC-MS profiling of stilbenes from elicited grapevine hairy root cultures. *J. Nat. Prod.* (2016) 79, 2846–2855.
- [19] Wu, J.M.; Hsieh, T. Resveratrol: A cardioprotective substance. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* (2011) 1215, 16–21.
- [20] Julien Vinet, Amandine L. Flourat, Cédric Peyrot, Fanny Brunois, Fanny Brunissen and Florent Allais. Optimization and Green Metrics Analysis of the AgOAc-Mediated Dimerization of Piceid: Toward a High-Yielding and More Sustainable Access to δ -Viniferin and Synthesis of New Piceid Dimers. *ACS Sustainable Chem. Eng.* (2022).

Effects of new neuraminidase 1 inhibitors extracted from *Olyra latifolia* L.: preliminary study

Camille Albrecht¹, Zachée Louis Evariste Akissi^{2,3}, Philomène Akoua Yao-Kouassi³, Abdulmagid Alabdul Magid², Pascal Maurice, Laurent Duca¹, Laurence Voutquenne-Nazabadioko², Amar Bennasroune¹

¹Université de Reims Champagne Ardenne, CNRS, MEDyC UMR 7369, 51097 Reims, France

²Université de Reims Champagne Ardenne, CNRS, ICMR UMR 7312, 51097 Reims, France

³Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière, UFR Sciences des Structures de la Matière et Technologie, Université Félix Houphouët-Boigny, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

Abstract :

Sialidases, also called neuraminidases, are involved in several human pathologies such as diabetes, cancers, neurodegenerative disorders, as well as infectious and cardiovascular diseases. Several studies have shown that neuraminidases, such as neuraminidase 1 (NEU-1), may be promising pharmacological targets. Therefore, the discovery of new selective inhibitors of NEU-1 are necessary to better understand the biological functions of this sialidase. In the present study, we describe the isolation and characterization of nine known compounds from leaves of *Olyra latifolia* (Poaceae). This plant, known to have several therapeutic properties, is used in Côte d'Ivoire to treat diabetes. Among the purified compounds, feddeiketone B, 2,3-dihydroxy-1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-1-propanone and syringylglycerol show structural analogy with DANA and their effects on the NEU-1 membrane were evaluated. Our results show that they possess inhibitory effects against NEU-1-mediated sialidase activity at the plasma membrane. In conclusion, we have identified new natural bioactive molecules extracted from *Olyra latifolia* as inhibitors of human NEU-1 of great interest to elucidate the biological functions of this sialidase and target this protein involved in several physiopathological contexts.

Key words: Poaceae, *Olyra latifolia* L., DANA, neuraminidase,

1. Introduction

Neuraminidase 1 (NEU-1) is an exoglycosidase which remove terminal sialic acid residues from glycoproteins, glycolipids and oligosaccharides [1, 7]. NEU-1 is implicated in the appearance and progress of various diseases. For example, NEU-1 activity is implicated in the development of diabetes due to an enhancement of insulin resistance through insulin receptor desialylation [3]. Furthermore, NEU-1 is implicated in the development of various cancers such as melanoma [11, 14, 16], breast [10, 13, 18, 20] and ovarian cancers [17]. At present, there are no commercially available inhibitors that are selective for NEU-1, especially due to the lack of structural data. Therefore, the role of NEU-1 is evaluated mainly using the broad-spectrum sialidase inhibitor DANA (N-Acetyl-2,3-dehydro-2deoxyneuraminic acid), or inhibitors of bacterial or viral NEUs, such as zanamivir or oseltamivir. Among them Tamiflu, with its active molecule oseltamivir phosphate, is able to block NEU-1 [15, 20]. DANA is currently used as a sialidase inhibitor blocking the ERC-related signaling [22, 19]. Only two selective inhibitors specific of human NEU-1, the C5-hexanamido-C9-actetamido-DANA [9] and the C9-amido analogue of DANA [12], have been identified. Thus, identify new compounds with inhibition activity against NEU-1 remains a very exciting challenge.

Olyra latifolia is a cane-like grass, thin woody culms which can be up to 4 m erected, more or less scandent, from a brief rhizome, and belongs to the family of Poaceae. *O. latifolia* is distributed in the neotropics, from the Southeast of the United States, passing through Central America to the Caribbean in South America and is also found in tropical Africa and Madagascar [4]. This plant is known to have several therapeutic properties [5, 6]. In Ivory Coast, the leaves are used for treating diabetes and the diabetic wound [2]. Previous phytochemical studies have identified the presence of carbohydrates such as fructans, phenolic acids, flavonoids such as flavones and flavonols, anthocyanins and leucoanthocyanins [8]. In the present paper, we describe the isolation and characterization of nine known compounds, identified by comparing their spectroscopic data with those reported in the literature. Among these compounds, feddeiketone, 2,3-dihydroxy-1-(4-hydroxy-3,5-diméthoxyphényl)-1propanone and syringylglycerol present a structural analogy with DANA. Their NEU-1 activity has been evaluated in order to identify natural putative inhibitors of this protein involved in several pathophysiological contexts. **2. Results and Discussion**

2.1. Structure identification

Nine compounds were isolated from *O. latifolia* leaves. Compounds **1-9** (**Fig 1**) were identified as feddeiketone B (**1**), 2,3-dihydroxy-1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-1-propanone (**2**), syringylglycerol (**3**), vicenine 2 (**4**), *p*-hydroxybenzoïc acid (**5**), *p*-hydroxybenzaldéhyde (**6**), 2,4dihydroxy-2,6,6-triméthylcyclohexylidene acetic acid (**7**), 4,6-dimethoxy-1-méthylquinolin-2-(1H)-one (**8**), and zizyvoside I (**9**) by comparing their spectral data with those reported in the literature. Among these compounds, we choose to test for this work the feddeiketone B, the 2,3-Dihydroxy-1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-1-propanone and the syringylglycerol due to their structural analogy with DANA. Structure of these compounds and DANA (**Fig 1, compound 10**) were shown for comparison.

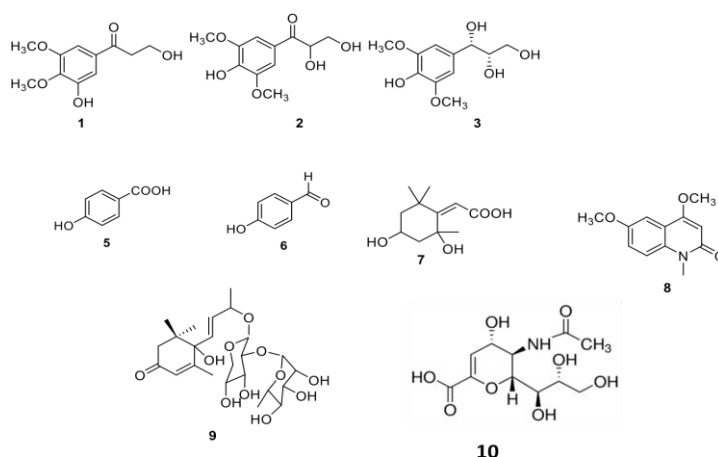


Figure 1. Chemical structures of compounds (1–9) isolated from *Olyra latifolia* and of *N*-Acetyl-2,3-dehydro-2-deoxyneuraminic acid (DANA) (10).

2.2. Viability assay

Effects on cell viability of feddeiketone B, 2,3-dihydroxy-1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-1-propanone, syringylglycerol and DANA were evaluated in COS-7 and THP-1 cell lines. For all these compounds, no cell toxicity was noticed both in COS-7 (**Fig 2 a, b**) and THP-1 (**Fig 2 c, d**) cell lines after 2- or 3-hours incubation at 0.1 and 1 μ M.

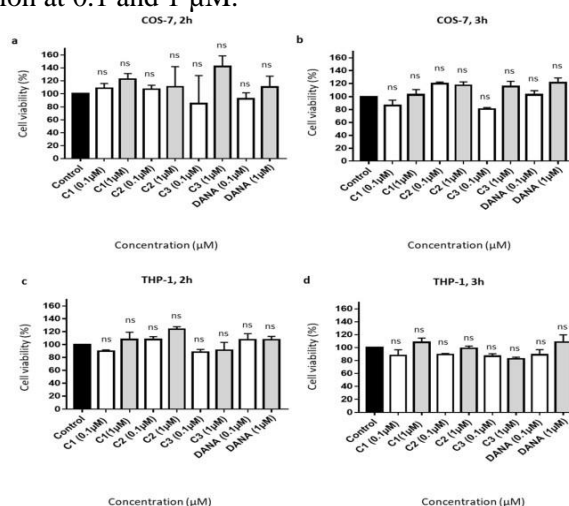


Figure 2. Effects of the vegetal compounds and of *N*-Acetyl-2,3-dehydro-2-deoxyneuraminic acid on cell viability. (**a–d**) 10,000 COS-7 and THP-1 cells were plated in 96 well plates. Cells were incubated with the natural compounds 1, 2, 3, or DANA at 0.1 or 1 μ M. (**a**) Effects on COS-7 cell viability after 2 h. (**b**) Effects on COS-7 cell viability after 3 h. (**c**) Effects on THP-1 cell viability after 2 h. (**d**) Effects on THP-1 cell viability after 3 h. Results were normalized to the control condition expressed at 100%. (n = 3–4), (ANOVA). Each run in triplicates, (C1: feddeiketone B, C2: 2,3-Dihydroxy-1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-1-propanone, C3: syringylglycerol, DANA: *N*-Acetyl-2,3-dehydro-2-deoxyneuraminic acid), (ns: non-significant). DANA and its vegetal structural analogues do not decrease in a significant manner cell viability.

2.3 Sialidase activity in COS-7 cells overexpressing NEU-1

We next evaluated the ability of feddeiketone B, 2,3-dihydroxy-1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-1-propanone and syringylglycerol to decrease the sialidase activity of COS-7 cells overexpressing NEU-1. COS-7 cells were transfected with both NEU-1 WT and PPCA plasmids and the capacity of DANA analogues to inhibit sialidase activity was assessed 48 hours post-transfection in crude membrane preparations. A four-fold increase of the sialidase activity, from 100 to $437 \pm 37\%$, was observed between untransfected cells and COS-7 cells transfected by plasmids encoding for NEU-1 (**Fig 3 a**). After 15 minutes of incubation at 0.1 μM , both DANA and its vegetal analogues are able to decrease NEU-1 sialidase activity by approximately 10 % compared to untreated cells. Feddeiketone B, 2,3-dihydroxy-1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-1-propanone, syringylglycerol and DANA show NEU-1 sialidase activities of 89.6 ± 3.1 , 90.6 ± 2.1 , 86.9 ± 1.8 % and 90.7 ± 1.9 % respectively in comparison with the untreated control (**Fig 3b**). After 15 minutes of incubation at 1 μM , NEU-1 inhibition slightly increases for all tested compounds. Indeed, a treatment by Feddeiketone B, 2,3-dihydroxy-1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-1-propanone, syringylglycerol and DANA in these conditions is associated with NEU-1 sialidase activities of 85.7 ± 1.3 , 85.9 ± 1.5 , 89.7 ± 0.92 % and 87.8 ± 1.5 % respectively. Similar effects were observed after 30 minutes incubation at both 0.1 and 1 μM (**Fig 3c**).

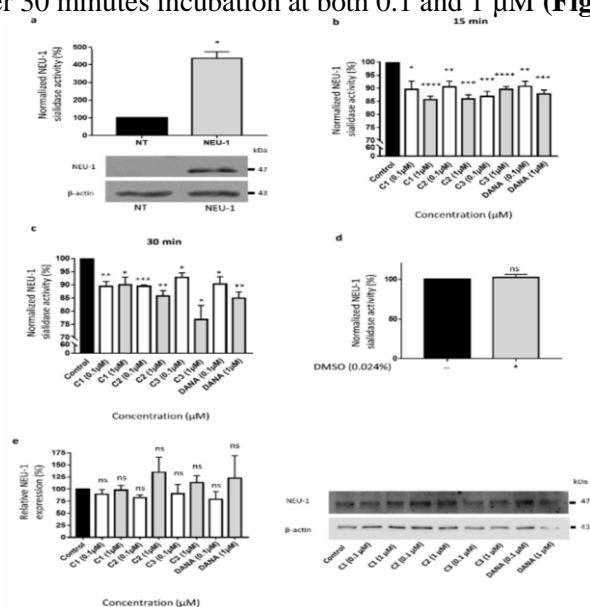


Figure 3. Effects of N-Acetyl-2,3-dehydro-2-deoxyneuraminic acid and compounds 1–3 on membrane NEU-1 sialidase activity in NEU-1 overexpressing cells. **(a)** Sialidase activities in untransfected (NT) and transfected (NEU-1) COS-7 cells. The bottom panel indicates the expression of NEU-1 in untransfected (NT) and transfected (NEU-1) COS-7 cells. β -actin was used as an internal control (n = 3) (t test). **(b)** Normalized sialidase activity after 15 min incubation with the vegetal compounds at 0.1 or 1 μM and comparison with DANA (n = 5–6) (t test). **(c)** Normalized sialidase activity after 30 min incubation with DANA and the compounds 1–3 at 0.1 or 1 μM . Results are represented compared to the nothing condition normalized to 100% (n = 3–6) (t test). **(d)** Effects of DMSO alone on NEU-1 sialidase activity (n = 7) (t test). **(e)** Relative NEU-1 expression in presence of the vegetal compounds and DANA at 0.1 and 1 μM . The expression of NEU-1 was normalized to β -actin (n = 3), (ANOVA), (C1: feddeiketone B, C2: 2,3-Dihydroxy-1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-1-propanone, C3: syringylglycerol, DANA: N-Acetyl-2,3-dehydro-2-deoxyneuraminic acid), (ns: non-significant, * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001, **** p < 0.0001).

Given that all compounds were resuspended in DMSO, effects of DMSO alone deposited at the same concentration as used previously in sialidase assays were evaluated. No effects of DMSO alone compared to the nothing control condition were observed, NEU-1 sialidase activities of 100 and $102.5 \pm 3.7\%$ respectively (**Fig 3d**). Effects of DANA used at its usual concentration of 400 μM were also assessed in crude membranes of COS-7 cells. An important decrease of NEU-1 sialidase activity of $95.6 \pm 1.13\%$ was pointed out (**Fig 3e**) although such a high concentration should be avoided for the three tested compounds extracted from *Olyra latifolia* due to a DMSO percentage higher at 400 μM than at 1 μM . Moreover, DANA and its vegetal analogues do not alter NEU-1 expression in transfected COS-7

cells (**Fig S1a**). Altogether these results suggest that both DANA and its structural analogues feddeiketone B, 2,3-dihydroxy-1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-1-propanone and syringylglycerol are able to decrease significantly the sialidase activity in NEU-1 overexpressing COS-7 cells.

2.4 Sialidase activity in NEU-1 endogenously expressing THP1-derived macrophages

As previously reported, membrane sialidase activity triggered by κ -elastin stimulation of THP1-derived macrophages is dependent of NEU-1. After κ -elastin stimulation, mNEU-1 sialidase activity of macrophages increases by 54.1 ± 9.0 % compared to non-stimulated cells for a pre-incubation period of 15 minutes and by 33.6 ± 5.6 % for a pre-incubation period 30 minutes (**Fig 4 a, b**). After 15 minutes of pre-incubation at $0.1 \mu\text{M}$, κ -elastin stimulated sialidase activity decreases from 40-50% in presence of DANA and its structural analogues. Indeed, sialidase activities of 154.1 ± 9.0 , 104.3 ± 11.2 , 109.5 ± 10.7 , 111.2 ± 11.2 and 111.5 ± 9.9 % are observed for κ -elastin stimulated macrophages without treatment or with feddeiketone B, 2,3-dihydroxy-1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-1-propanone, syringylglycerol and DANA respectively. These effects were increased at a concentration of $1 \mu\text{M}$ showing an inhibition range of 60-70%. Sialidase activities of 154.1 ± 9.0 , $92.1.3 \pm 5.5$, 96.7 ± 7.4 , 90.9 ± 6.9 and 80.9 ± 7.3 % are noticed for κ -elastin cells without treatment or with feddeiketone B, 2,3-dihydroxy-1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-1-propanone, syringylglycerol and DANA respectively (**Fig 4 a**).

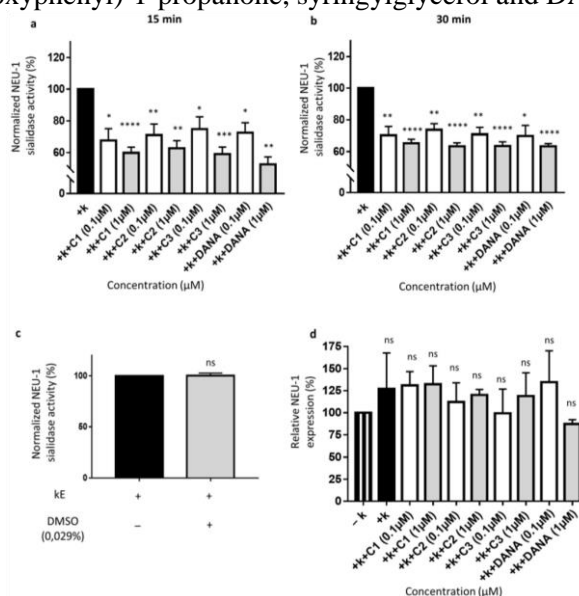


Figure 4. Effects of N-Acetyl-2,3-dehydro-2-deoxyneuraminic acid and compounds 1–3 on membrane NEU-1 sialidase activity in full adherent macrophages. Adherent macrophages were incubated with DANA and the vegetal compounds and sialidase activity was triggered or not by K-elastin. **(a)** Normalized membrane NEU-1 sialidase activity after 15 min incubation with DANA or compounds 1–3 at 0.1 or 1 μM under K-elastin stimulation ($n = 3-6$) (t test). **(b)** Normalized membrane NEU-1 sialidase activity after 30 min incubation with DANA or compounds 1–3 at 0.1 or 1 μM under K-elastin stimulation.%. ($n = 3-8$) (t test). Results are represented compared to the control condition (+ K-elastin) normalized to 100%. **(c)** Effects of DMSO alone on membrane NEU-1 sialidase activity under K-elastin stimulation ($n = 4$) (t test). **(d)** Relative NEU-1 expression in presence of the vegetal compounds and DANA at 0.1 and 1 μM . The expression of NEU-1 was normalized to β -actin ($n = 3$), (ANOVA) (C1: feddeiketone B, C2: 2,3-Dihydroxy-1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-1-propanone, C3: syringylglycerol, DANA: N-Acetyl-2,3-dehydro-2-deoxyneuraminic acid), (ns: non-significant, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$).

Same observations were performed after 30 minutes of pre-incubation demonstrating inhibition of 2025% at $0.1 \mu\text{M}$ and of 30-40 % at $1 \mu\text{M}$. Sialidase activities (at $0.1 \mu\text{M}$) of $133.6.1 \pm 5.6$, 106.6 ± 8.3 , 111.6 ± 5.9 , 107.3 ± 6.7 and 105.8 ± 10.1 % are pointed out for κ -elastin stimulated cells without treatment or with feddeiketone B, 2,3-dihydroxy-1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-1-propanone, syringylglycerol and DANA respectively. Sialidase activities (at $1 \mu\text{M}$) of $133.6.1 \pm 5.6$, 99.0 ± 3.7 , 96.1 ± 3.3 , 96.3 ± 4.1 and 95.9 ± 2.7 % are observed for κ -elastin stimulated cells without treatment or with feddeiketone B, 2,3-dihydroxy-1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-1-propanone, syringylglycerol and

DANA respectively (**Fig 4 b**). As in COS-7 cells, DANA and its analogues act as quick inhibitors. In fact, an increase of the incubation time doesn't raise the sialidase activity inhibition in our experimental conditions. The sialidase inhibitory effects could not be seen in THP1-derived macrophages without κ -elastin stimulation (**Fig 4 c, d**). As for COS-7 cells, DMSO alone doesn't inhibit the sialidase activity. Under κ -elastin stimulation, sialidase activities of 119.8 ± 5.3 and 120.2 ± 2.9 % were noticed for untreated cells and cells in presence of DMSO at the same concentration as used previously in sialidase assays respectively (**Fig 4 e**). NEU-1 sialidase activities of 111.9 ± 4.4 and 79.3 ± 9.7 % are observed for κ -elastin stimulated macrophages without any treatment or with DANA at a concentration of $400 \mu\text{M}$ respectively (**Fig 4 f**). DANA and its vegetal analogues do not alter NEU-1 expression in THP1-derived macrophages with or without κ -elastin stimulation (**Fig S1b**). Altogether these data indicate that both DANA and its vegetal analogues are able to decrease sialidase activity with a similar level in NEU-1 endogenously expressing THP1-derived macrophages under κ -elastin stimulation.

In both cell lines, vegetal structural analogues of DANA act quickly at low concentrations to inhibit NEU-1 sialidase activity. Effects of vegetal analogues were more important in THP1-derived macrophages under κ -elastin stimulation than in COS-7 cells overexpressing NEU-1. All vegetal compounds tested show comparable sialidase activity inhibition ranges. Their inhibition abilities were also similar to those observed with DANA at same concentrations. Consequently, these vegetal structural DANA analogues could be used as natural putative inhibitors of NEU-1 and could serve as models to design more potent synthetic inhibitors.

3. Experimental Procedure

3.1. General

NMR spectra were recorded in CD_3OD on a Bruker Avance III 500 spectrometer equipped with a 5 mm TCI cryoprobe. HR-ESI-MS analysis was conducted using a Micromass Q-TOF micro instrument. Flash chromatography was carried out on a Grace Reveleris system equipped with dual UV and ELSD detection using Grace® cartridges (Silica gel or RP- C_{18}). HPLC separations were performed on a Dionex apparatus equipped with an ASI-100 autosampler, an Ultimate 3000 pump, a STH 585 column oven, a diode array detector UVD 340S and a Chromeleon software. A prepacked RP- C_{18} column (Phenomenex 250×10 mm, Luna 5μ) was used for semi-preparative HPLC. The eluting mobile phase consisted of H_2O with TFA (0.0025%) and CH_3CN with a flow rate of 5 mL/min and the chromatogram was monitored at 205 and 210 nm. Thin-layer chromatography (TLC) was carried out using silica gel 60 F₂₅₄ pre-coated aluminium plates (0.2 mm, Merck). After developing with solvent systems, spots were visualized by spraying with 50% H_2SO_4 followed by heating.

3.2. Plant material

The leaves of *Olyra latifolia* L. were collected at Akoupe in Me province (in South-East), Ivory Coast in February 2017 and were identified by Professor AKE ASSI. A voucher specimen UCJ 007583 was deposited at the Herbarium of the National Center of Floristic of the FHB University of Cocody-Abidjan.

3.3. Extraction and isolation

The dried powdered leaves of *O. latifolia* (1.748 Kg, dry weight) were defatted in 19 L of petroleum ether (PE). The defatted powder was macerated with 19 L of CH_2Cl_2 for 48 h, followed by heating under reflux in 19 L of 80% MeOH. After evaporation of the solvents, 3.5 g of PE, 7.65 g of CH_2Cl_2 , and 40 g of 80% MeOH extracts were obtained. The CH_2Cl_2 extract was subjected to vacuum liquid chromatography (VLC) over RP- C_{18} , eluting with H_2O -MeOH (8:2, 6:4, 4:6, 2:8, and 10:0) to obtain fractions A-E. Fraction B (209 mg) was further purified by semi-preparative HPLC using a gradient (1025% CH_3CN , in 45 min) to give compounds **1** (2 mg, t_R 7.98 min), **2** (3 mg, t_R 13.63 min), **6** (2 mg, t_R 15.85 min), and **7** (3 mg, t_R 18.57 min). The 80% MeOH extract was suspended in H_2O (500 mL) and subjected to chromatography on a Diaion HP-20 column (4.3×40 cm). Step gradient elution was conducted with MeOH- H_2O (0, 25, 50, 75 and 100%, each 2 L), to give fractions 1-5, respectively. Fraction 3 (13.9 g) was subjected to a VLC over RP- C_{18} , eluted with MeOH- H_2O (0, 25, 50, 75 and 100%) and fraction eluted with 50% MeOH (6.7 g) was further fractionated by VLC over silica gel using CH_2Cl_2 -MeOH (10:0-5:5) as eluent. Fraction eluted with CH_2Cl_2 -MeOH (8:2) was subjected to flash chromatography over RP- C_{18} to give to compound **3** (10 mg) and **5** (9 mg). Fraction eluted with CH_2Cl_2 MeOH (7:3) was purified by Flash chromatography over silica gel to obtain compound **9** (6 mg).

Fraction eluted with CH₂Cl₂-MeOH-H₂O (5:5) was separated by flash chromatography over silica gel to obtain compounds **4** (7 mg) and **8** (55 mg).

3.4. Compound solubilization

The three compounds tested *in vitro*, feddeiketone B (**1**), 2,3-Dihydroxy-1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-1-propanone (**2**), syringylglycerol (**3**) and DANA were solubilized in DMSO. In all experiments, final percentages of DMSO used were under 0.03%.

3.5. MTT assay

Cell viability assays were performed on COS-7 cells (ATCC[®] CRL-1651[™]), a fibroblast-like cell line derived from green African monkey kidney, and on human THP-1 derived macrophages (ATCC[®] TIB202[™]) harvested in 96 well plates at a cell density of 10 000 cells/well. 72 hours are mandatory for THP1 cells to differentiate into macrophages under PMA treatment (phorbol-12-myristate-13-acetate) (Calbiochem). After 24h for COS-7 and 72 hours for THP-1, cells were incubated with feddeiketone B (**1**), 2,3-Dihydroxy-1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-1-propanone (**2**), syringylglycerol (**3**) or DANA (Sigma) for 2 or 3 hours at a concentration range from 0.1 to 1 μM. Medium was removed and cells were incubated in obscurity for 4 hours at 37°C with a 3-(4-5-dimethylthiazol-2-yl) -2,5-diphenyltetrazolium bromide solution (MTT, Sigma, 5mg/ml) diluted 1/6 in PBS. After incubation, medium was removed, wells washed with PBS and 100 μl Dimethyl Sulfoxyde (DMSO) (Sigma) were added to each well to solubilize formazan crystals. After 5 min agitation at room temperature, cell viability was assessed at 570 nm with Infinite F200 Pro (TECAN) hardware using Magellan software.

3.6. Cell culture and transfection

Plasmid encoding human PPCA protein was provided by Pr. Alessandra d'Azzo and has been described previously. Plasmid encoding human NEU-1 was purchased from ImaGenes GmbH (Berlin, Germany). JetPEI DNA transfection reagent used for cell transfections was purchased from Polyplus transfection. COS-7 cells were harvested in 4,5 g/l glucose Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) supplemented with 10% heat-inactivated fetal bovine serum, 100 units/mL penicillin, 0.1 mg/mL streptomycin at 37°C in a humidified atmosphere at 95% air and 5% CO₂. For sialidase assays, COS-7 cells were transiently transfected with NEU-1/PPCA (1:2) using JetPEI according to the manufacturer's protocol and all experiments were performed 48 hours post-transfection. THP-1 cells were harvested in RPMI 1640 medium supplemented with 10% heat-inactivated fetal bovine serum, 100 units/mL penicillin, 0.1 mg/mL streptomycin at 37°C in a humidified atmosphere at 95% air and 5% CO₂. THP1 monocytes were differentiated into adherent macrophages using 50 nM PMA (phorbol-12-myristate-13-acetate) (Calbiochem) for 72h.

3.7. Sialidase activity

Transfected COS-7 cells harvested in 10 cm Petri dishes were washed with cold PBS and resuspended in 1 mL cold TEM buffer (75 mM Tris, 2 mM EDTA, 12 mM MgCl₂ with a protease inhibitor cocktail, 10 mM NaF, 2 mM Na₃VO₄, pH 7.5). After sonication, samples were centrifuged at 600g (10 min, 4°C) to remove nuclei and non lysed cells. Thereafter, samples were centrifuged at 20000g (45 min, 4°C) and crude membrane-containing pellets were resuspended in 400 μl MES buffer (2-(N-Morpholino) ethanesulfonic acid hydrate, 20 mM, pH 4.5) (Sigma). After quantification of proteins with a BCA protein assay (kit BCA, Pierce), sialidase activity at the plasma membrane was measured from 50 μg of crude membrane proteins. Vegetal compounds and DANA were incubated with crude membrane preparations for 15- or 30-min. Crude membrane proteins in MES buffer were then incubated with Muf-NANA at a concentration of 400 μM for 2 hours at 37°C in obscurity. 2'-(4-Methylumbelliferyl) - alphas-D-N-acetylneuraminic acid (Muf-NANA) was purchased from BioSynth. Reaction was stopped by adding Na₂CO₃ (Merck). Samples were then deposited in black 96 well plates and emitted fluorescence was measured with Infinite F200 Pro (TECAN) hardware and Magellan software (excitation: 360 nm/emission: 465 nm). Sialidase activity at the plasma membrane of macrophages was performed as described previously. Kappa-elastin harboring the GxxPG bioactive motif was produced by chemical hydrolysis of insoluble elastin coming from bovine neck ligaments. Kappa-elastin obtained after hydrolysis was lyophilized. Differentiated THP-1 cells, seeded in 12-well culture dishes (5.10⁵ cells/well), were washed with PBS and pre-incubated 15 or 30 min with vegetal compounds and DANA, a reaction buffer containing 20 mM of CH₃COONa (pH=6.5) and 400 μM of Muf-NANA, with or

without κE (50 $\mu g/mL$). After the pre-incubation step, cells were put 2h30 at 37°C in the dark. After incubation, the reaction was stopped by adding 0.4 M of glycine buffer (pH=10.4) and the fluorescent 4-methylumbeliferone product released in the medium was measured using the Infinite F200 Pro (TECAN) hardware and Magellan software.

3.8. Western blot

Protein samples in appropriate buffers according to the experiments were diluted in Laemmli buffer (62.5 mM Tris, 2% SDS, 10% glycerol, 0.05% bromophenol blue, pH 6.8) and heated 10 min at 100°C. After electrophoresis in a 10% acrylamide SDS-PAGE gel, proteins were transferred onto a nitrocellulose membrane at 100 V for 1 hour in a Tris/glycine buffer supplemented with 10% ethanol. After blocking of the nitrocellulose membrane with 0.05% TBS Tween-20 (TBS-T) supplemented with 5% milk for 1 hour at room temperature, membrane was probed with primary antibodies diluted at 1/200 for NEU-1 (NEU-1 F8 Santa Cruz) and at 1/750 for β actin (Santa Cruz) in TBS-T with 3% BSA overnight at 4°C. Membrane was then washed in TBS-T and incubated with HRP-linked secondary antibodies diluted at 1/10 000 in TBS-T with 5 % milk at room temperature. Anti-mouse HRP-linked antibodies (Cell Signaling) were used for protein detections. Chemiluminescent protein detection was done using ECL Prime and ODYSSEY Fc (Lycor) hardware.

3.9. Statistical analysis

Results are expressed as mean \pm SEM. Statistical significance was evaluated using t test or ANOVA followed by a Dunnett's multiple comparison test.

4. Conclusion

In this preliminary study, we report the isolation and characterization of nine compounds (**1–9**) isolated for the first time from *O. latifolia* leaves. Among them, compounds **1–3** having structural analogy with DANA showed inhibitory effects against human NEU-1-mediated sialidase activity at the plasma membrane. This preliminary study predicted an inhibitory potential of these vegetal compounds that could be a starting point for the development of new natural putative inhibitors of NEU-1 and for the design of more potent synthetic inhibitors (identified by determining their IC_{50} and K_i values and comparing with those of other inhibitors).

5. References

- [1] Camille Albrecht, Zachée Louis Evariste Akissi, Philomène Akoua Yao-Kouassi, Abdulmagid Alabdul Magid, Pascal Maurice, Laurent Duca, Laurence Voutquenne-Nazabadioko, and Amar Bennisroune, **2021**. Identification and Evaluation of New Potential Inhibitors of Human Neuraminidase 1 Extracted from *Olyra latifolia* L.: A Preliminary Study. *Biomedicines*, 9, 411.
- [2] BAMBA Biti, Bulletin Officiel de la Propriété Industrielle (BIOPI), brevets d'inventions, publication N°06BR/2014 du 21 octobre 2015, 13p
- [3] Blaise, S.; Romier, B.; Kawecki, C.; Ghirardi, M.; Rabenoelina, F.; Baud, S.; Duca, L.; Maurice, P.; Heinz, A.; Schmelzer, C.E.H.; et al., **2013**. Elastin-Derived Peptides Are New Regulators of Insulin Resistance Development in Mice. *Diabetes*, 62, 3807–3816.
- [4] Burkill, H.M. **1994**. The useful plants of West Tropical Africa. Vol. 2. Royal Botanic Gardens, Kew, UK. 636 p.
- [5] DeFilipps, R. A., Marina, S. L., Crepin, J., **2004**. Medicinal plants of the Guianas (Guyana, Surinam, French Guiana). Department of Botany, National Museum of Natural History, Smithsonian.
- [6] Felix G. C., Dimpfi M. P., Caley A. J., Gregory J. A., **2012**. The good and the bad: Alkaloid screening and brine shrimp bioassays of aqueous extracts of 31 medicinal plants of eastern Nicaragua; *Pharm. Biol.*, 50(3) 384–392.
- [7] Giacopuzzi, E.; Bresciani, R.; Schauer, R.; Monti, E.; Borsani, G., **2012**. New Insights on the Sialidase Protein Family Revealed by a Phylogenetic Analysis in Metazoa. *PLoS ONE*, 7, e44193.
- [8] Gibbs RD., **1974**. Chemotaxonomy of Flowering Plants. Vol I-IV. Montreal, Canada: McGillQueen's University Press.
- [9] Guo, T.; Héon-Roberts, R.; Zou, C.; Zheng, R.; Pshezhetsky, A.V.; Cairo, C.W., **2018**. Selective Inhibitors of Human Neuraminidase 1 (NEU1). *J. Med. Chem.*, 61, 11261–1127.
- [10] Haxho, F.; Allison, S.; Alghamdi, F.; Brodhagen, L.; Kuta, V.E.; Abdulkhalek, S.; Neufeld, R.J.; Szewczuk, M.R., **2014**. Oseltamivir Phosphate Monotherapy Ablates Tumor Neovascularization, Growth, and Metastasis in Mouse Model of Human Triple-Negative Breast Adenocarcinoma. *Breast Cancer*, 6, 191–203.

- [11] Hornebeck, W.; Robinet, A.; Duca, L.; Antonicelli, F.; Wallach, J.; Bellon, G., **2005**. The Elastin Connection and Melanoma Progression. *Anticancer Res.*, *9*, 2617–2625.
- [12] Magesh, S.; Moriya, S.; Suzuki, T.; Miyagi, T.; Ishida, H.; Kiso, M., **2008**. Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Human Sialidase Inhibitors. Part 1: Selective Inhibitors of Lysosomal Sialidase (NEU1). *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, *18*, 532–537.
- [13] Nicoloff, G.; Delliyski, T.; Nikolov, A., **2010**. Detection of Serum Collagen Collagen Type IV and Elastin Derived Peptides in Patients with Breast Cancer. *Diabetol. Croat.*, *11*, 83–93.
- [14] Ntayi, C.; Labrousse, A.-L.; Debret, R.; Birembaut, P.; Bellon, G.; Antonicelli, F.; Hornebeck, W.; Bernard, P., **2004**. Elastin-Derived Peptides Upregulate Matrix Metalloproteinase-2-Mediated Melanoma Cell Invasion through Elastin-Binding Protein. *J. Investig. Dermatol.*, *122*, 256–265.
- [15] O’Shea, L.K.; Abdulkhalek, S.; Allison, S.; Neufeld, R.J.; Szewczuk, M.R., **2014**. Therapeutic Targeting of Neu1 Sialidase with Oseltamivir Phosphate (Tamiflu®) Disables Cancer Cell Survival in Human Pancreatic Cancer with Acquired Chemoresistance. *Oncotargets Ther.*, *7*, 117–134.
- [16] Poczka, P.; Süli-Vargha, H.; Darvas, Z.; Falus, A., **2008**. Locally Generated VGVAPG and VAPG Elastin-Derived Peptides Amplify Melanoma Invasion via the Galectin-3 Receptor. *Int. J. Cancer*, *122*, 1972–1980.
- [17] Ren, L.; Zhang, L.; Huang, S.; Zhu, Y.; Li, W.; Fang, S.; Shen, L.; Gao, Y., **2016**. Effects of Sialidase NEU1 siRNA on Proliferation, Apoptosis, and Invasion in Human Ovarian Cancer. *Mol. Cell. Biochem.*, *411*, 213–219.
- [18] Salesse, S.; Odoul, L.; Chazée, L.; Garbar, C.; Duca, L.; Martiny, L.; Mahmoudi, R.; Debelle, L., **2018**. Elastin Molecular Aging Promotes MDA-MB-231 Breast Cancer Cell Invasiveness. *FEBS Open Biol.*, *8*, 1395–1404.
- [19] Scandolera, A.; Odoul, L.; Salesse, S.; Guillot, A.; Blaise, S.; Kawecki, C.; Maurice, P.; El Btaouri, H.; Romier-Crouzet, B.; Martiny, L.; et al., **2016**. The Elastin Receptor Complex: A Unique Matricellular Receptor with High Anti-Tumoral Potential. *Front. Pharmacol.*, *7*, 3
- [20] Thulasiraman, P.; Kerr, K.; McAlister, K.; Hardisty, S.; Wistner, A.; McCullough, I., **2019**. Neuraminidase 1 Regulates Proliferation, Apoptosis and the Expression of Cadherins in Mammary Carcinoma Cells. *Mol. Cell. Biochem.*, *462*, 207–215.
- [21] Vergiat A. M., **1970**. Plantes magiques et médicinales des Féticheurs de l’Oubangui (Région de Bangui) (suite). In : Journal d’agriculture tropicale et de botanique appliquée, vol. 17(1-4) 60-91.
- [22] Gayral, S.; Garnotel, R.; Castaing-Berthou, A.; Blaise, S.; Fougerat, A.; Berge, E.; Montheil, A.; Malet, N.; Wymann, M.P.; Maurice, P.; et al., **2014**. Elastin-Derived Peptides Potentiate Atherosclerosis through the Immune Neu1-PI3K γ Pathway. *Cardiovasc. Res.*, *102*, 118–127.

Activité antibactérienne des extraits aqueux de *tetrapleura tetraptera* schumach. Thonn. (fabaceae)

Ahon Gnamien Marcel^{1,2}, Golly Koffi Julien³, Allou N'guetta Etienne Salomon⁴, Ackah Jacques Auguste Alfred Bognan⁴

¹Institut Pédagogique National de l'Enseignement Technique et Professionnel (IPNETP), 08 BP7 2098 Abidjan 08, Côte d'Ivoire.

²Laboratoire de Biologie et Santé, UFR Biosciences, Université Félix Houphouët-Boigny, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

³Pôle de Biologie de l'Immunité, Institut Pasteur de Côte d'Ivoire (IPCI) 01 BP 490 Abidjan 01, Côte d'Ivoire

⁴Laboratoire Agrovalorisation, UFR Agroforesterie, Université Jean LOROUGNON GUEDE, BP 150 Daloa, (Côte d'Ivoire).

Auteur correspondant : AHON Gnamien Marcel ; Cel : 0707772187 ; email : gnamienmarcel@yahoo.fr

Résumé

Face à la recrudescence des maladies infectieuses due à la résistance des bactéries suite à l'utilisation abusive des antibiotiques conventionnels (Gillespie et al 2001) il apparaît urgent de proposer d'autres molécules à base de plantes plus efficaces. Cette étude a été initiée afin d'évaluer l'activité antibactérienne des extraits aqueux des fruits et des écorces du tronc de *Tetrapleura tetraptera Tchum* sur la croissance *in vitro* des souches de *Escherichia coli* et de *Staphylococcus aureus*. Les méthodes utilisées ont été l'étude phytochimique basée sur des tests de coloration et/ou de précipitation (Tiwari et al., 2011) et les méthodes de diffusion en milieu solide et de dilution en milieu liquide (Okou et al 2018). Les extraits d'écorces et les fruits de *Tetrapleura tetraptera Tchum* contiennent des polyphénols, des flavonoïdes et des saponines. Quant aux alcaloïdes et aux tanins, ils sont uniquement présents dans les fruits. En milieu solide et en milieu liquide, l'extrait issu de la macération de l'écorce est actif sur tous les germes étudiés. Les plus larges diamètres obtenus avec cet extrait sont de 19,33 mm sur *E. coli* et de 18,66 sur *S. aureus* à 400 mg/mL. Cet extrait présente des CMI variant de 3,125 à 25 mg/mL et des CMB allant de 6,25 à 25 mg/mL. Les rapports CMB/CMI obtenus indiquent que l'extrait est bactéricide. Cette justifie l'usage de la plante pour soigner infections bactériennes en milieu traditionnel. Il voudrait approfondir cette par la détermination du mécanisme d'action du principe actif.

1. Introduction

La recrudescence des maladies infectieuses est due aux nombreux mécanismes de résistances qu'ont développés les microorganismes particulièrement les bactéries au cause à l'utilisation massive et parfois abusive des antibiotiques (Yalaet al., 2001). L'instabilité génétique des souches bactériennes et les difficultés liées aux limites des outils de diagnostic d'antibiothérapie sont à la base des échecs thérapeutiques (Okou et al., 2018). Pour la lutte contre les nombreux échecs thérapeutiques, la pharmacopée traditionnelle à base de plante reste l'une des voies les plus convoitées. Vu leurs rôles importants et primordiaux dans le cas des soins de santé, les plantes médicinales constituent une alternative ou du moins un complément à la médecine moderne. Cependant, le problème lié à l'usage des remèdes traditionnels à base de plantes est le manque de connaissances par rapport au mode d'action, aux principes actifs, aux doses à utiliser, aux indications et au contrôle de la qualité (Golly, et al., 2012). C'est pour contribuer à une connaissance approfondie et un usage rationnel de la médecine traditionnelle à base de plante que cette étude a été menée. Elle a consisté à vérifier l'activité antibactérienne des extraits des fruits et des écorces de *Tetrapleura* sur la croissance *in vitro* de *E. coli* et de *S. aureus*.

2. Matériel et méthodes

2.1. Les souches bactériennes

Les germes bactériens utilisés dans cette étude étaient constitués de six souches : une souche de *Staphylococcus aureus* sensible à la Céfoxitine (*S. aureus* 1174), une souche de *Staphylococcus aureus* résistante à la Céfoxitine (*S. aureus*1225C/19), deux souches de *Escherichia coli* sensibles à la Céfoxitine (*E. coli* 1219 et 1178), et deux souches de références *S. aureus* ATCC 29213 sensible à la Céfoxitine et *E. coli* ATCC 25922 sensible à la Céfoxitine. Toutes ces souches ont été fournies par le service de bactériologie de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire (IPCI).

2.2. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé a été constitué des écorces du tronc et des fruits de *Tetrapleura tetraptera*.

2.3. Préparation des extraits aqueux de *T. tetraptera*

Les différents extraits ont été préparés par macération, décoction et infusion. Selon la méthode de préparation d'extraits par macération (Zihiri *et al.*, 2003).

2.4. Etude de l'activité antibactérienne

L'étude de l'activité antibactérienne a été faite suivant deux méthodes :

- la méthode de diffusion en milieu solide afin d'étudier l'efficacité des extraits ;
- la méthode de dilution en milieu liquide pour déterminer les paramètres antibactériens (CMI : Concentration Minimale Inhibitrice et la CMB : Concentration Minimale Bactéricide).

2.4.1. Tests d'efficacité des extraits végétaux en milieu solide

Le test d'efficacité sert à détecter l'activité antimicrobienne d'une substance. Pour ce test, la gélose Mueller Hinton a constitué le principal milieu de culture (Soro *et al.*, 2010)

2.4.2. Test de détermination des paramètres antimicrobiens des extraits

Les paramètres antimicrobiens que sont la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et la Concentration Minimale Bactéricide (CMB) des extraits ont été déterminés selon la méthode de dilution en milieu liquide (Golly *et al.*, 2012 ; Ouattara *et al.*, 2016).

2.5. Etude phytochimique

L'étude phytochimique des fruits et des écorces du tronc de *T. tetraptera*, basée sur des tests de coloration et/ou de précipitation, a été réalisée sur les extraits aqueux du broyat des fruits et des écorces (Tiwari *et al.*, 2011 ; Ashafa *et Umebese*, 2012)

3. Résultats

3.1. Activité antibactérienne des extraits sur la croissance *in vitro* des germes

3.1.1. Activité en milieu solide

Les résultats sont exprimés par les diamètres d'inhibition des extraits. L'extrait par Macération des Ecorces (ME) est actif sur toutes les souches de *S. aureus* aux différentes concentrations (400 mg/mL, 200 mg/mL et 100 mg/mL) avec des diamètres respectifs de :

- 19,00 mm, 16,33 mm et 13,00 mm pour la souche *S. aureus* ATCC29213 ;
- 18,66 mm, 16,33 mm et 13,00 mm pour la souche *S. aureus*1225C/19 et
- 14,33 mm, 12,00 mm et 10,66 mm pour la souche *S. aureus* 1174C/19.

3.1.2. Paramètres antibactériens de l'extrait par Macération des Ecorces (ME) en milieu liquide

L'extrait (ME) inhibe la croissance *in vitro* de toutes les souches de *S. aureus* avec des CMI de

- 12,50 mg/mL pour la souche de référence *S. aureus* ATCC29213 ;
- 12,5 mg/mL pour la souche *S. aureus* 1225C/19 ;
- 25 mg/mL pour la souche *S. aureus* 1174C/19

Concernant les souches de *E. coli*, la CMI est de 3,125 mg/mL sur la souche *E. coli* 1178C/19 et supérieure à 100mg/mL sur les deux autres souches de *E. coli*.

Les concentrations minimales bactéricides (CMB) de l'extrait (ME) sur les souches de *S. aureus* sont égales aux CMI.

En revanche, sur la souche de *E. coli*1178C/19 sa CMB est de 6,25 mg/mL et supérieure à 100 mg/mL sur les souches *E. coli* 1219C/19 et *E. coli* de référence. Le résultat du rapport CMB/CMI est de 1 pour toutes les souches de *S. aureus* et de 2 pour la souche *E. coli* 1178C/19. Ce rapport est indéterminé pour les deux autres souches de *E. coli*.

3.2. Composition en métabolites secondaires des extraits de *T. tetraptera*

Les différents extraits des fruits de *Tetrapleura tetraptera* (macération (MF), infusion (IF) et décoction (DF)) contiennent des alcaloïdes, des tanins, des polyphénols, des flavonoïdes et des saponines. L'extrait de l'écorce du tronc de *T. tetraptera* (ME) est riche en polyphénols, en flavonoïdes et saponines. Les quinones et les stérols sont absents dans tous les extraits de *T. tetraptera*.

4. Discussion

L'étude de l'activité antibactérienne des différents extraits réalisée en milieu solide par la méthode de diffusion a conduit à la détermination de l'extrait le plus actif. Celle en milieu liquide par la méthode des doubles dilutions a permis d'obtenir les paramètres antimicrobiens de cet extrait. En effet,

la méthode de diffusion en milieu gélosé est un pré-test ou un test d'efficacité qui permet de détecter l'existence d'une activité antibactérienne d'une substance (**Oussou et al., 2008**)

La méthode de diffusion a révélé que sur les souches de *S. aureus*, l'extrait de l'infusion des fruits (IF) de *T. tetraptera* a été actif sur la seule souche de *S. aureus* 1225C/19 à la concentrations de 400 mg/mL avec un diamètre d'inhibition moyen de 9,33 mm. Mais les autres extraits du fruit (macération et décoction) de *T. tetraptera* n'ont eu aucun effet sur la croissance *in vitro* des trois souches de *S. aureus* aux concentrations de 100 mg/mL, 200 mg/mL et 400 mg/mL. En revanche, l'extrait de la macération des écorces du tronc (ME) de *T. tetraptera* a inhibé la croissance de toutes les souches de *S. aureus* avec des diamètres d'inhibitions moyens variant de 10,66 mm à 19,00 mm. Tous les extraits de *T. tetraptera* ont inhibé la croissance de la souche de *E. coli* 1178C/19 avec des diamètres d'inhibitions plus élevés enregistrés avec l'extrait ME (19,33 mm, 15,00 mm et 13,00 mm). La croissance *in vitro* des souches de *E. coli* 1119 et *E. coli* ATCC25922 n'a pas été inhibée par aucun extrait de *T. tetraptera*. Ces résultats indiquent que les deux souches de *S. aureus* ATCC29123 et 1225C/19 testées et la souche *E. coli* 1178C/19 sont très sensibles à l'extrait ME (200 mg/mL et 400 mg/mL) car ayant induit des diamètres de zone d'inhibitions supérieurs 15 mm. Ces résultats sont similaires à ceux de **Ponce et al., (2003)** et **Golly et al., 2015**.

Les paramètres antibactériens (CMI et CMB) obtenus en milieu liquide avec l'extrait ME ont confirmé l'existence d'un pouvoir antibactérien de celui-ci sur toutes les souches de *S. aureus* étudiés, et sur la souche de *E. coli* 1178C/19. En effet, les rapports CMB/CMI enregistrés sur chacun de ces germes restent inférieurs à 4. Ce résultat révèle que l'extrait ME a un effet bactéricide sur ces germes (**Marmonier, 1990**). Dans la présente étude, les bactéries GRAM positif (*S. aureus*) ont été tous sensibles à l'extrait ME comparativement aux bactéries GRAM négatifs (*E. coli*). Dans la littérature, différentes études ont été faites sur la résistance des bactéries GRAM positif et GRAM négatif. Ainsi, plusieurs auteurs ont confirmé la grande résistance des bactéries GRAM négatif par rapport aux bactéries GRAM positif. Cette résistance des GRAM négatif serait liée à la présence de leur membrane externe qui fonctionnerait comme une barrière efficace contre les biomolécules (**Bagamboula et al., 2004**). Cependant, selon **Rath et al. (2009)**, la résistance des bactéries GRAM négatif et bactéries GRAM positif à des plantes dépendrait de la nature de l'extrait des plantes mais aussi de la nature de la souche testée.

5. Conclusion

Cette étude s'inscrit dans le vaste programme de la valorisation de la pharmacopée ivoirienne par la recherche de nouvelles molécules anti-infectieuses. Il ressort de ces travaux que de tous les extraits de *Tetrapleura tetraptera* utilisés, l'extrait de l'écorce du tronc (macération des écorces du tronc ME) a été le plus actif comparativement, à la macération (MF), la décoction (DF) et l'infusion (IF) des fruits de cette plante. Les composés phénoliques, les saponines, les flavonoïdes révélés dans les extraits pourrais être à l'origine des activités observées. Ces résultats apportent donc une justification scientifique de l'usage traditionnel de cette espèce végétale de la médecine traditionnelle pour son activité antibactérienne.

Références

- Yala D, Merad A .S, Mohamedi D. &Ouar K. M.N. 2001. Classification et mode d'action des antibiotiques. Médecine du Maghreb. 91 : 5-12.
- Bssaibis F, Gmira N, Meziane M, 2009. Activité antibactérienne de *Dittrichia viscosa* (L.) W. Greuter. Revue de Microbiologie Industrielle Sanitaire et Environnementale, 3 : 44-55.
- Tiwari P., Kumar B., Kaur M., Kaur G. & Kaur H. (2011). Phytochemical screening and extraction: A review. *Inter Pharm Sci.* 1: 98-106
- Okou O.C. Sopia E-S.Y. Kouassi E.K. Guy L.B. Sylvia M &Allico J.D :2018. Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de feuilles de *Solanumtorvum*Swartz (Solanaceae) sur la croissance *in vitro* de 3 souches d'entérobactéries. *Journal of Applied Biosciences* 122 : 12287-12295
- Golly K. J., Siaka S., Guessenn N., Soro Y., Djaman A. J. &Dosso M. (2012). Phytochemical assessment and antimicrobial activity of leaves extract of *Vernoniacolorata* (Wild.) Drake on Resistant Germs of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *J Chem Pharm Res*, 4: 2490-2494.

- Zirih G. N., Kra A. K. M. &Guede-Guina F. (2003). Evaluation de l'activitéantifongique de *Microglossapyrifolia*(Larmarck) O. kuntze (Asteraceae) " pymi " sur lacroissance*in vitro* de *Candida albicans*. *Revue Méd. Pharm. Afr.* 17 : 11-18.
- Ashafa A. O. T. &Umebese C. 2012. Phytochemical screening, antibacterial and antifungal activity of *Garuleumwoodiischinz*. Root extracts against human pathogenic microbes. *J Med Plant Res*, 42: 5513-5518.
- Ouattara Abou, Golly Koffi Julien, Touré Abdoulaye, Adima Amissa Augustin Ouattara Karamoko, and Coulibaly Adama. 2016. Investigation on traditional use of *Pericopsis (afromosia) laxiflora* (Benth.) stem bark in treatment of infectious diseases caused by *Staphylococcus aureus* and *Shigella* sp., two multi-resistants bacteria. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*
- Oussou K. R., Yolou S., Boti J. B., Guessennnd K. N., Kanko C., Ahibo C., Casanova J. (2008). Etude Chimique et ActiviteAntidiarrheique des Huiles Essentielles de Deux Plantes Aromatiques de la Pharmacopee Ivoirienne. *Eur J SciRes*,24 : 94-103.
- Ponce A.G., Fritz R., Del Alle C. &Roura S.I. (2003). Antimicrobial activity of essential oil on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologic*, 36: 679-684.
- Marmonier A. A. (1990) Introduction aux techniques d'étude des antibiotiques. *Bactériologie Médicale, technique usuelles*. 227-236.
- Bagamboula C. F., Uyttendaele M. &Debevere J. (2004). Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and *p*-cymene towards *Shigellasonnei*and *S. flexneri*. *Food Microbiology*, 21 : 33-42.
- Soro D, Kone MW, Kamanzi K. 2010. Evaluation des activités antimicrobiennes et antiradicaux libres de quelques taxons bioactifs de Côte D'Ivoire ; *European Journal of Scientific Research* 4 0(2):307-317.
- Rath S. K., Mohapatra N., Dubey D., Panda S. K., Thatoi H. N. & Dutta S. K. (2009). Antimicrobial activity of *Diospyrosmelanoxylon*bark from similipal biosphere reserve, Orissa, India. *Afr J of Biotec*, 8: 1924-1928.
- Ouattara Abou, Golly Koffi Julien, Touré Abdoulaye, Adima Amissa Augustin Ouattara Karamoko, and Coulibaly Adama. 2016. Investigation on traditional use of *Pericopsis (afromosia) laxiflora* (Benth.) stem bark in treatment of infectious diseases caused by *Staphylococcus aureus* and *Shigella* sp., two multi-resistants bacteria. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*
- Soro D, Kone MW, Kamanzi K. 2010. Evaluation des activités antimicrobiennes et antiradicaux libres de quelques taxons bioactifs de Côte D'Ivoire ; *European Journal of Scientific Research* 4 0(2):307-317

Évaluation du potentiel nutritionnel des feuilles de *Xanthosoma mafaffa* (L.) Schott, utilisées comme légumes-feuilles au Togo

Kanabiya Essodjolon Prospère^{1,2*}, Mélila Mamatchi^{1,3}, Novidzro Kosi Mawuéna^{1,2}, Dotse Kokouvi^{1,2}, Koumaglo Kossi Honoré^{1,2}

¹Laboratoire de Génie des Procédés et des Ressources Naturelles (LAGEPREN) ; 01 BP 1515, Université de Lomé -Togo

²Département de Chimie, Faculté des Sciences ; 01 BP 1515, Université de Lomé -Togo

³Département de Biochimie, Faculté des Sciences ; 01 BP 1515, Université de Lomé -Togo

*Auteur correspondant : KANABIYA Essodjolon Prospère ; E-mail : ekanabiya@gmail.com

Résumé :

Xanthosoma mafaffa est une plante alimentaire, très utilisée en médecine traditionnelle au Togo pour traiter l'anémie et plusieurs pathologies infectieuses. La présente étude vise à déterminer le potentiel nutritionnel des feuilles de cette plante afin qu'elles soient mieux appréciées au Togo par les consommateurs.

Les composés d'intérêt nutritionnels des jeunes feuilles et des feuilles matures ont été dosés par des méthodes analytiques mises au point par AOAC (2005) ; tandis que les teneurs en éléments minéraux ont été quantifiées par analyse spectrophotométrique UV-Visible.

Les résultats ont indiqué que les teneurs en glucides digestibles, fibres, protides et matières grasses sont de : 38,81 ± 0,36% et 30,72 ± 0,71% ; 24,33 ± 1,25% et 30,39 ± 2,24% ; 17,06 ± 1,68% et 15,81 ± 0,63% ; puis 3,18 ± 0,44% et 3,44 ± 0,59%, respectivement pour les jeunes feuilles et les feuilles matures.

Les éléments minéraux majeurs présents dans les feuilles sont Na, Ca, Mg et K ; avec des rapports Na/K<1, Ca/Mg>1 et Ca/P>1.

Ces résultats prouvent que les feuilles étudiées présentent des caractéristiques nutritionnelles comparables à celles des légumes bien appréciées au Togo. La caractérisation des molécules à propriété anti-anémiantes dans les feuilles va beaucoup inciter les consommateurs.

Mots clés : *Xanthosoma mafaffa* ; feuilles ; potentiels nutritionnels.

Abstract

Xanthosoma mafaffa is a food plant, widely used in traditional medicine in Togo to treat anemia and several infectious pathologies. The present study aims to determine the nutritional potential of the leaves of this plant so that they are better appreciated in Togo by consumers.

Compounds of nutritional interest in young leaves and mature leaves have been determined by analytical methods developed by AOAC (2005); while mineral element contents were quantified by UV-Visible spectrophotometric analysis.

The results indicated that the contents of digestible carbohydrates, fiber, proteins and fats are: 38.81 ± 0.36% and 30.72 ± 0.71%; 24.33 ± 1.25% and 30.39 ± 2.24%; 17.06 ± 1.68% and 15.81 ± 0.63%; then 3.18 ± 0.44% and 3.44 ± 0.59%, respectively for young leaves and mature leaves.

The major mineral elements present in the leaves are Na, Ca, Mg and K; with Na/K<1, Ca/Mg>1 and Ca/P>1 ratios.

These results prove that the leaves studied have nutritional characteristics comparable to those of the vegetables well appreciated in Togo. The characterization of molecules with anti-anemic properties in the leaves will greatly encourage consumers.

Keywords: *Xanthosoma mafaffa*; leaves; nutritional potentials.

INTRODUCTION

L'émergence des maladies dans le monde rend les pays en voie de développement plus vulnérables (Yala et al., 2016). Les maladies infectieuses constituent une préoccupation importante de santé publique à cause de leur fréquence et de leur gravité dans ces pays (Traoré et al., 2012). La découverte des antibiotiques a été ainsi un véritable soulagement pour l'humanité car ces remèdes ont permis de réduire considérablement l'incidence des maladies infectieuses. Cependant, l'usage incontrôlé de ces molécules a provoqué un phénomène de résistance chez beaucoup d'agents infectieux (Guessennd et al., 2009). De plus, le coût sans cesse élevé des prix des médicaments disponibles, associé à l'émergence des agents pathogènes multirésistants, on note un regain d'intérêt pour la pharmacopée africaine (Akoua et al., 2004 ; Konan et al., 2014). Par ailleurs, la malnutrition reste toujours un des problèmes majeurs de santé publique. On estime qu'une faible consommation de légumes, dans les régimes déséquilibrés, est à

l'origine d'environ 31% des cardiopathies ischémiques et de 11% des accidents vasculaires cérébraux (Dias, 2012). Ceci est lié non seulement à la quantité et à la qualité des aliments que l'on ingère, mais aussi au manque d'informations et de vulgarisation des ressources locales. Les plantes sont utilisées depuis la préhistoire par l'homme pour des besoins nutritionnels et thérapeutiques. Effectivement, certains légumes comestibles regorgeant des propriétés pharmacologiques et entrent ainsi dans l'alimentation de la population (Defraigne & Pincemail, 2008). En effet, légumes sont une importante source d'alcaloïdes, de polyphénols, de fibres, de minéraux et surtout de vitamines et possèdent ainsi plusieurs propriétés telles que les activités antioxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes et anticancéreuses (N'Guessan et al., 2009 ; Dossou et al., 2012). De ce fait, leurs usages contribuent à l'amélioration de l'état nutritionnel et à la prévention des pathologies dans les zones rurales et urbaines. Les graines fermentées de *Parkia biglobosa*, les feuilles et la pulpe d'*Adansonia digitata* et la pulpe *Sclerocarya birrea* sont utilisées respectivement pour traiter l'hypertension, l'anémie et les carences nutritionnelles (Thiombiano et al., 2012). Il en est de même pour les feuilles de *Moringa oleifera* qui non seulement possèdent un potentiel thérapeutique mais aussi présentent des propriétés nutritionnelles intéressantes (Ferreira et al., 2008). Dans de nombreux pays africains, les plantes comestibles sont utilisées comme nourriture et contribuent ainsi à satisfaire les besoins nutritionnels de la population (Gandhi et al., 2011). Au Togo, plusieurs plantes sont utilisées dans la pharmacopée comme d'excellentes sources d'enrichissement et de diversification alimentaires pour la population mondiale (Akpagana, 2006). C'est le cas de *Xanthosoma mafaffa*, une plante originaire d'Amérique Centrale et d'Amérique du Sud. Largement distribuée, elle est devenue une adventice pantropicale. L'espèce est cultivée comme légume en Afrique de l'Ouest, en Afrique Centrale, dans le Sud et l'Est de l'Asie. C'est une plante comestible dont les feuilles tendres sont consommées sous forme de légume (Bammite et al., 2018). Sur le plan thérapeutique, les feuilles de *Xanthosoma mafaffa* possèdent des activités antimicrobienne, antianémique et antiaflatoxine B₁ (Dzotam et al., 2015 ; Opong et al., 2015). Cependant, très peu d'études scientifiques ont été menées sur son potentiel nutritionnel et médicamenteux. Cette étude vise à déterminer le potentiel nutritionnel des feuilles de cette plante afin qu'elles soient mieux appréciées au Togo par les consommateurs.

MATERIEL ET METHODE

Cadre d'étude

Cette étude a été réalisée au Laboratoire de Génie des Procédés et des Ressources Naturelles (LAGEPREN), situé au Département de Chimie à la Faculté Des Sciences de l'Université de Lomé.

Matériel

Matériel végétal

Les feuilles de *Xanthosoma mafaffa* ont constitué le principal matériel végétal de cette étude. Elles ont été récoltées en avril 2019 dans la Zone Ecologique III à Ayomé dans la préfecture de l'Amou. Ce choix de la localité de récolte a été fait non seulement sur la base de la disponibilité de la plante, mais aussi, du fait que c'est l'unique variété cultivée dans cette zone. Le site de récolte étant éloigné de l'agglomération, la pollution du matériel végétal a été jugée faible. Nos travaux dans cette étude ont porté sur les feuilles immatures et matures de *Xanthosoma mafaffa*. L'espèce a été identifiée et conservée à l'herbarium de l'Université de Lomé (Togo) sous le numéro 15661.

Méthodes

Analyses biochimiques

Teneur en matières protéiques

Les protéines ont été dosées par la méthode de Kjeldahl adaptée aux aliments. La minéralisation de l'azote par destruction de la matière organique de l'échantillon au moyen de l'acide sulfurique concentré aboutit à la formation du sulfate d'ammonium. Celui-ci a été ensuite décomposé par la soude avec dégagement de l'ammoniac, qui a été distillé, recueilli dans une quantité connue d'acide titré et dosé en retour par une solution étalon de base. Le taux d'azote obtenu a été converti en pourcentage de protéines brutes en multipliant le résultat par le facteur 6,25.

Teneur en matières grasses

La teneur totale en lipides a été déterminée selon la norme AFNOR NFV03-713 (AFNOR, 1991). L'opération a consisté à extraire la matière grasse d'un échantillon test de 1 g avec de l'hexane dans un extracteur de type Soxhlet. L'hexane a été ensuite évaporé sur un évaporateur rotatif et la capsule a été

séchée dans un four à 103 °C et à poids constant. La différence de poids a donné la teneur totale en lipides en gramme pour 100 g de produit et exprimée par la formule suivante :

$$L = \frac{\text{Poids en g de résidu lipidique}}{\text{Masse d'échantillon d'essai en g}} \times 100$$

Taux de cendres

La teneur en matières minérales totales (cendres) a été déterminée à partir d'une prise d'essai de 5 g. La prise d'essai a été introduite dans un creuset en porcelaine préalablement chauffé à 550 °C puis refroidi au dessiccateur et taré. L'ensemble a été porté progressivement à 550 °C dans un four pour une carbonisation lente sans inflammation. La température est ainsi maintenue à 550 °C durant 6 heures pour obtenir des cendres blanches. La teneur en cendres a été calculée comme suit :

$$Tc (\%) = \frac{M_i - M_f}{M_e} \times 100$$

Avec :

M_i = masse du creuset à vide, M_f = masse du creuset calciné + cendre, M_e = masse de la prise d'essai.

Détermination du taux de glucides totaux

La teneur en glucides a été déduite par calcul différentiel :

$$\text{Teneur en glucides} = M_s - (P + MG + C)$$

Avec :

M_s = matière sèche ; P = masse de protéines totales ; MG = masse de matières grasses ;

C = masse de cendres

Détermination de la valeur énergétique

La valeur énergétique globale est l'énergie libérée par la combustion des macronutriments qui sont : protéines, glucides, fibres alimentaires et des lipides contenus dans l'alimentation en tenant compte de leur coefficient d'Atwater et Benedict : 4 kcal, 4 kcal, 1,91205 kcal et 9 kcal respectivement. Elle a été exprimée en kilocalorie (kcal) et calculée à partir de la relation suivante :

$$E (\text{Kcal}) = [(9 \times L) + (4 \times P) + (1,91205 \times TF) + (4 \times GD)]$$

Avec :

L : teneur en lipides ; P : teneur en protéines ; GD : teneur en glucides ; TF : teneur en fibres alimentaires.

Dosage des minéraux

Le dosage des minéraux a été réalisé en se conformant aux méthodes d'AOAC (2005). Après minéralisation par destruction de la matière organique par voie humide à l'aide de l'action conjuguée des acides nitrique et sulfurique, les teneurs en minéraux ont été déterminées au spectrophotométrie d'absorption atomique à flamme. Le dosage du phosphore quant à lui, a été réalisé par colorimétrie. Le phosphore total a été d'abord transformé en un complexe phosphomolybdate jaune qui absorbe à 430 nm tel que décrit par Pauwels et al. (1992).

Analyses statistiques

Les données des dosages des composés biochimiques et du test antimicrobien ont été saisies grâce aux logiciels Excel 2016 et analysées grâce au logiciel GraphPad Prism 8.41 puis exprimés en moyenne ± ESM.

RESULTATS

Taux d'humidité, matière sèche, cendres et composés organiques

Le tableau 2 présente les teneurs moyennes en macronutriments et la valeur énergétique des feuilles de *X. mafaffa* analysées.

Tableau 1 : Composition biochimique et valeur nutritionnelles des feuilles de *X. mafaffa* analysées

		Paramètres déterminés							
		Teneur en eau (g/100g MF)	Glucides de totaux (g/100g MS)	Fibres totales (g/100g de MS)	Matières grasses (g/100g de MS)	Matières azotées (g/100g de MS)	Glucides digestibles (g/100g de MS)	Cendres totales (g/100g de MS)	Energie métabolisable (Kcal/100g de MS)
JF	Minimum	91,65	60,35	22,17	2,41	14,15	38,18	14,17	277,50
	Médiane	91,99	63,15	24,32	3,18	17,26	38,83	16,37	303,80
	Max	93,19	65,90	26,49	3,96	19,98	39,41	18,59	328,90
	Moy ± ESM	92,42± 1,44	63,13±1,60	24,33±1,25	3,18±0,44	17,06±1,68	38,81±0,36	16,38±1,29	302,90±14,69
F	Minimum	88,43	55,91	26,51	2,43	14,72	29,40	15,65	252,50
	Médiane	89,82	61,36	30,41	3,43	15,71	30,35	19,82	279,20
M	Max	90,81	66,07	31,80	4,46	16,90	31,80	24,15	304,10
	Moy ± ESM	89,69± 0,69	61,11± 2,94	30,39± 2,24	3,44± 0,59	15,81± 0,63	30,72± 0,71	19,90± 2,45	278,70± 14,90

NB : JF = Jeunes Feuilles ; FM = Feuilles Matures ; MS = Matière sèche ; MF = Matière fraîche. Les valeurs ont été exprimées sous forme de moyenne ± ESM (n= 3).

Teneurs en minéraux et les Ratios Na/K, Ca/P et Ca/Mg des feuilles de *X. mafaffa* analysées

La composition minéralogique obtenue, de même que les ratios Na/K, Ca/P et Ca/Mg se présentent, comme suit, dans le tableau 2.

Tableau 2 : Teneurs en quelques minéraux des feuilles de *X. mafaffa* analysées

		Teneurs en minéraux (mg/100g de MS)					Rapports Na/K, Ca/P et Ca/Mg			
		Na	K	Ca	Mg	P	Fe	Na/K	Ca/P	Ca/Mg
JF	Minimum	56,75	1043,08	818,23	120,30	325,04	07,44	0,05	2,03	0,66
	Médiane	122,50	1812,46	879,98	746,30	395,39	12,58	0,16	2,23	0,7
	Max	810,02	2925,23	947,97	1440,07	467,46	13,03	0,28	2,52	6,78
	Moy ± ESM	329,80±240,90	1927,01± 546,30	883,10±7,4	769,08± 381,20	396,30±41,1 1	11,02± 1,79	0,17± 0,06	2,22± 0,14	1,15±0,97
F	Minimum	102,76	985,37	919,94	346,29	421,39	11,29	0,14	2,18	1,18
	Médiane	152,20	2034,53	1125,19	963,20	423,40	14,56	0,16	2,66	1,06
	Max	910,07	3043,01	1328,58	1049,04	469,36	18,37	0,18	2,83	2,66
	Moy ± ESM	388,30± 261,30	2021,11± 594,22	1124,01± 117,90	786,20± 221,30	421,40± 27,70	14,74± 2,05	0,16± 0,01	2,67±0,19	1,43±0,47

NB : JF = Jeunes Feuilles ; FM = Feuilles Matures ; MS = Matière sèche. Les valeurs ont été exprimées sous forme de moyenne ± ESM (n= 3).

Le tableau 3 présente la contribution en substances organiques et minérales des feuilles de *X. mafaffa* aux Apports Journaliers Recommandés (AJR).

Tableau 3 : Contribution en substances organiques et minérales de 100 g de matière sèche des feuilles de *X. mafaffa* aux Apports Journaliers Recommandés (AJR)

NB : ^aApports nutritionnels de référence en minéraux, énergie, glucides, fibres, lipides, protéines et

Eléments analysés	AJR pour un adulte (Homme/Femme)	Quantité dans 100 g de MS de feuilles de <i>X. mafaffa</i>	Contribution de 100 g de MS de feuilles de <i>X. mafaffa</i> aux ARJ (%)
Glucides digestibles (g)	130 ^a	38,81	29,89
Matières grasses (g)	44-97 ^a	3,18	3,28 – 7,20
Matières azotées (g)	56	17,06	30,46
Energie métabolisable (Kcal)	2500/2000 ^a	302,90	12,13 – 15,14
Na (mg)	1500 ^a	329,80	21,98
Na (mg)	4700 ^b	1927,01	41,03
K(mg)	900 ^{bc}	883,10	98,12
Ca (mg)	420 ^a	769,08	183,11
Mg (mg)	750 ^{bc}	396,30	52,92
P (mg)	27,4/58,8	11,02	2,48 – 5,33
Fe (mg)			

acides aminés ; ^bApports nutritionnels recommandé pour un poids corporel de 70 kg (Frénot et Vierling, 2002), ^cAFSSA (2009).

DISCUSSION

Les teneurs en eau des jeunes feuilles et des feuilles matures de *X. mafaffa* analysées (Tableau 1) ont été supérieures à ce qui a été rapporté avec les feuilles d'*A. digitata* (74%) et les jeunes feuilles de *Moringa oleifera* (73%) (Ndong et al., 2007 ; Michel et al., 2012). Elles ont été similaires à celles des fruits et légumes (80-90%) mais supérieures à ce qui est observé avec les céréales (10-20%) et au niveau des poissons, viandes et chairs d'animaux (60-70%) (Jean et al., 1999). Ce résultat montre ainsi que les feuilles de *X. mafaffa* peuvent être classées parmi les aliments riches en eau.

Les teneurs moyennes en minéraux (Tableau 2) des jeunes feuilles et des feuilles matures de *X. mafaffa* ont été supérieures à celles rapportées par Ndong et al. (2007) dans les jeunes feuilles de *M. oleifera* (2,42 ± 0,30 %). Ceci indique que les différentes feuilles de *X. mafaffa* sont riches en minéraux. Les teneurs en minéraux des jeunes feuilles et des feuilles matures de *Xanthosoma mafaffa* ont été donc appréciables et même comparables à celles de certains légumes et légumineuses qui en constituent des principales sources d'approvisionnement tels que les feuilles de baobab, de moringa et de manioc (Ocho-Anin et al., 2012). Les minéraux sont des éléments essentiels requis pour le bon fonctionnement et l'entretien de l'organisme. Les éléments minéraux interviennent dans une large gamme de fonctions en lien avec la minéralisation, le contrôle de l'équilibre en eau, les systèmes enzymatiques et hormonaux, le système musculaire, les systèmes nerveux et immunitaire. Selon Fahey (2005), ils représentent également des constituants importants de l'alimentation humaine en servant de cofacteur d'enzymes pour de nombreux processus physiologiques et métaboliques. De ce fait, les carences en micronutriments constituent de graves problèmes de santé. En effet, le fer, le magnésium et le zinc représentent des minéraux indispensables pour le corps humain de par leur intervention dans la production et l'oxygénation des globules, la digestion et la circulation sanguine (Akoto et al., 2015). Le calcium et le phosphore constituent des éléments diététiques majeurs, nécessaires pour la formation du squelette. Le zinc est considéré comme un élément à l'état de trace qui stimule les défenses immunitaires, protège contre le vieillissement cellulaire et entretient les tissus adipeux (Al-Jameil et al., 2014). Le calcium, le magnésium et le potassium interviennent ainsi dans la contraction musculaire (Konate et al., 2017). Le sodium quant à lui participe à la transmission de l'influx nerveux et à l'équilibre hydrique de l'organisme (Akoto et al., 2015). Ceci montre que les minéraux sont indispensables et doivent être apportés en quantités requises pour le bon fonctionnement de l'organisme. La présence des minéraux en quantités appréciables dans les feuilles de *X. mafaffa* est donc un atout nutritionnel. Dès lors, leur utilisation alimentaire pourrait avoir des effets bénéfiques sur l'ostéoporose, la prévention du

vieillessement et le renforcement du système immunitaire (Fahey, 2005). De plus, le rapport moyen Na/K a été inférieur à 1 (Tableau 2) et donc, bénéfique pour la promotion de la santé cardiovasculaire (Al-Jameil et al., 2014). Cette faible concentration de sodium et la présence d'une importante quantité de potassium justifient l'intérêt de l'utilisation des légumes dans un régime anti-hypertensif (Ameyran et al., 2015). En outre, le rapport moyen Ca/P et celui Ca/Mg ont été supérieurs à 1 (Tableau 2), concomitamment à la teneur moyenne élevée en calcium des feuilles analysées. Ces légumes-feuilles sont donc moins riches en phosphore et en magnésium par rapport au calcium. Cette richesse des feuilles de *X. mafaffa* en calcium montre qu'elles peuvent être utilisées dans les régimes qui visent la formation du squelette (Neve et al., 1995) et l'équilibre du pH de l'organisme en neutralisant les excès d'acides. Le phosphore est aussi indispensable dans les processus de mise en réserve d'énergie dans l'organisme sous forme d'ATP. Les feuilles de *X. mafaffa* analysées peuvent alors aider à la formation du squelette chez l'enfant à travers le phosphore et le calcium qu'ils contiennent (Kemi et al., 2006). Par ailleurs, la présence de quantité relativement importante de magnésium de ces feuilles est aussi intéressante pour l'organisme. En effet, le magnésium intervient dans le mécanisme des réactions chimiques au niveau de l'absorption intestinale et constitue un cofacteur indispensable des enzymes du métabolisme des glucides (Adeyeye, 2002). La présence de ces différents minéraux dans les feuilles de *X. mafaffa* analysées fait alors d'eux, un aliment très bénéfique pour la santé humaine, du fait de leur rôle dans plusieurs activités physiologiques (Egwim et al., 2011). Les teneurs moyennes en glucides totaux des jeunes feuilles et des feuilles matures de *X. mafaffa* ont été supérieures à 16,1% pour les feuilles de baobab et à 14,1% pour les jeunes feuilles de *M. oleifera* (Ndong et al., 2007). Ces teneurs en glucides totaux montrent que les feuilles de *Xanthosoma mafaffa* contribuent fortement aux AJR en glucides. Il en est de même pour les fibres totales avec des teneurs de $24,33 \pm 1,25\%$ et de $30,39 \pm 2,24\%$, respectivement dans les jeunes feuilles et des feuilles matures. En effet, les glucides associant les fibres alimentaires sont généralement recommandés pour empêcher l'athérosclérose. Un régime riche en fibres est très bénéfique car il permet d'éviter la constipation et les maladies au niveau de l'intestin telles que l'appendicite et le cancer du côlon (Okoro & Achuba, 2012). Ceci montre que les feuilles de *X. mafaffa* présentent une bonne valeur nutritionnelle par rapport aux glucides. Les teneurs en matières grasses obtenues avec les jeunes feuilles et les feuilles matures de *X. mafaffa* ont été supérieures à celles des feuilles de baobab (0,3%) et de *M. oleifera* (0,6%) (Ndong et al., 2007) mais faibles par rapport à ce qui est observé au niveau des oléagineux, viandes et poissons. Ces faibles teneurs en lipides suggèrent donc que les feuilles de *X. mafaffa* peuvent être consommées dans les régimes antihypertensifs et par des personnes ayant des problèmes d'excès de poids avec une contribution entre 27,96% et 61,64% aux AJR en lipides (Tableau 3) pour un adulte de 70 Kg. Les teneurs moyennes en protéides des jeunes feuilles et des feuilles matures de *Xanthosoma mafaffa* analysées (Tableau 1) ont été respectivement de $17,06 \pm 1,68\%$ et de $15,81 \pm 0,63\%$. Elles constituent donc une source de protéines non des moindres et supérieures à celles des feuilles de baobab (2,88%) mais faibles par rapport à celles obtenues avec les feuilles de *M. oleifera* ($57,79 \pm 0,24$). L'apport en énergétique des jeunes feuilles et celle des feuilles matures de *Xanthosoma mafaffa* a été relativement supérieur, concomitamment aux teneurs en matières organiques, à ce qui a été obtenu avec les jeunes feuilles de *X. sagittifolium* soit 212,70 Kcal/100 g de matière sèche. Ce résultat obtenu avec les feuilles de *X. mafaffa* montre que, leur utilisation dans l'alimentation humaine peut contribuer à la lutte contre la malnutrition protéino-énergétique surtout chez les jeunes enfants qui en représentent une couche vulnérable. En considérant 100 g de matière sèche des feuilles de *X. mafaffa*, on peut constater à travers cette étude que la contribution aux Apports Journaliers Recommandés (AJR) est relativement faible pour le sodium (10,34%), pour le potassium (27,80%), pour le magnésium (9,15%), pour le calcium (4,28%) et pour le phosphore (10,49%). Mais elle est relativement élevée pour le fer (76,78%) (Tableau 3). Ces contributions restent tout de même importantes par rapport aux feuilles d'*A. digitata* et de *X. sagittifolium* en considérant les résultats de (Ukpong et al., 2014). Au vu de l'ensemble des teneurs en matières organiques (Tableau 1) et en minéraux (Tableau 2), on pourra dire que les feuilles de *Xanthosoma mafaffa* ont une valeur nutritive non négligeable, semblable à celle des légumes et légumineuses qui entrent quotidiennement dans l'alimentation humaine. Ces feuilles contribueraient efficacement à la lutte contre les carences en minéraux et la malnutrition protéino-énergétique. Elles pourraient contribuer aussi à la lutte contre la carence en vitamine A, de par son caractère de légume-vert. De plus, leurs teneurs en composés phytochimiques et biochimiques témoignent leurs des activités biologiques.

Conclusion

Les objectifs spécifiques assignés de cette étude ont été d'évaluer le potentiel nutritionnel des jeunes feuilles. L'analyse de la composition chimique et biochimique des feuilles étudiées a montré qu'elles ont une importante valeur nutritionnelle avec une contribution non négligeable aux apports journaliers recommandés. Leurs utilisations alimentaires sous forme de légume-feuille pourraient lutter contre la carence en minéraux et la malnutrition protéino-énergétique chez le jeune enfant. L'ensemble de ces résultats justifie les usages alimentaires et thérapeutiques des feuilles de *X. mafaffa*. Par ailleurs, les jeunes feuilles ont montré une valeur nutritive plus intéressante en comparaison avec ce qui a été observé avec les feuilles matures.

Références bibliographiques

- Adeyeye, E. I. (2002). Determination of the chemical composition of the nutritionally valuable parts of male and female common West African fresh water crab *Sudananautes africanus africanus*. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 53(3), 189-196.
- AFSSA (2009). Agence française de sécurité sanitaire des aliments, relatif à l'évaluation des teneurs en vitamines et minéraux des denrées enrichies et des compléments alimentaires : synthèse. Maisons-Alfort, 38p.
- Akoto, O., Borquaye, L. S., Howard, A. S., & Konwuruk, N. (2015). *Nutritional and mineral composition of the fruits of Solanum torvum from Ghana*. *International Journal of Chemical and Biomolecular Science*, 1(4), 222-226.
- Akpagana, K. (2006). *Savoirs locaux et recherches de la biodiversité : Habitudes alimentaires et utilisations des plantes alimentaires mineures ou menacées de disparition au Togo. Rapport annexe III*. (Savoirs locaux et gestion de la biodiversité). Université de Lomé. Disponible sur : <https://hdl-bnc-idrc.dspace.org/handle/10625/43771>
- Al-Jameil, N., Khan, F. A., Khan, M. F., & Tabassum, H. (2014). A brief overview of preeclampsia. *Journal of clinical medicine research*, 6(1), 1.
- Bammite, D., Matthews, P., J., Dagnon, D., Y., Akouethe, A., Komi, O., Alexandre, D & Koffi, T. (2018). Agro morphological characterization of taro (*Colocasia esculenta*) and yautia (*Xanthosoma mafaffa*) in Togo, West Africa. *African Journal of Agricultural Research*, 13 (18),
- Defraigne, J. O., & Pincemail, J. (2008). Stress oxydant et antioxydants : *rev med liège*, 10.
- Dias, J. S. (2012). Nutritional Quality and Health Benefits of Vegetables: A Review. *Food and Nutrition Sciences*, 03(10), 1354-1374. <https://doi.org/10.4236/fns.2012.310179>
- Dias, J. S. (2012). Nutritional Quality and Health Benefits of Vegetables: A Review. *Food and Nutrition Sciences*, 03(10), 1354-1374. <https://doi.org/10.4236/fns.2012.310179>
- Dzotam, J. K., Touani, F. K., & Kuete, V. (2015). Antibacterial and antibiotic-modifying activities of three food plants (*Xanthosoma mafaffa* Lam., *Moringa oleifera* (L.) Schott and *Passiflora edulis* Sims) against multidrug-resistant (MDR) Gram-negative bacteria. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(1), <https://doi.org/10.1186/s12906-016-0990-9>
- Egwim, E. C., Elem, R. C., & Egwuiche, R. U. (2011). Proximate composition, phytochemical screening and antioxidant activity of ten selected wild edible Nigerian mushrooms. *Am J Food Nutr*, 1(2), 89-94.
- Fahey, J. W. (2005). *Moringa oleifera* : A review of the medical evidence for its nutritional, therapeutic, and prophylactic properties. Part 1. *Trees for life Journal*, 1(5), 1-15.
- Ferreira, P. M. P., Farias, D. F., Oliveira, J. T. de A., & Carvalho, A. de F. U. (2008). *Moringa oleifera* : Bioactive compounds and nutritional potential. *Revista de Nutrição*, 21, 431-437.
- Frénot M, Vierling E. *Biochimie des aliments : diététique du sujet bien portant*. Doin. Paris; 2002; 86p.
- Gandhi, G. R., Ignacimuthu, S., Paulraj, M. G., & Sasikumar, P. (2011). Antihyperglycemic activity and antidiabetic effect of methyl caffeate isolated from *Solanum torvum* Swartz. Fruit in streptozotocin induced diabetic rats. *European Journal of Pharmacology*, 670(2-3), 623-631. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2011.09.159>
- Guessennd, N., Gbonon, V., Tiékoura, K., Kakou-N'douba, A., Ouattara, D., Boni-Cissé, C., & He, F. J., & MacGregor, G. A. (2008). Beneficial effects of potassium on human health. *Physiologia Plantarum*, 133(4), 725-735. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2007.01033>.
- Kemi, V. E., Kärkkäinen, M. U., & Lamberg-Allardt, C. J. (2006). High phosphorus intakes acutely and negatively affect Ca and bone metabolism in a dose-dependent manner in healthy young females. *British journal of nutrition*, 96(3), 545-552.
- Konate M, Parkouda C, Tarpaga V, Guira F, Rouamba A, Sawadogo-Lingani H. Evaluation des potentialités nutritives et l'aptitude à la conservation de onze variétés d'oignon (2018). *Int J Biol Chem Sci*.11(5):2005-2015.
- Himour, S., Yahia, A., Belattar, H., & Bellebcir, L. (2016). *Etude phytochimique de feuilles d'Olea europaea L. var Chemel d'Algérie*. 01(1), 5.

- Jean G, Bergot P, Kaushik S. (1999) Nutrition et alimentation des poissons et crustacés ; Inra ; 184p.
- Kouchadé, S. A., Adjatin, A. R., Adomou, A. C., Dassou, H. G., & Akoègninou, A. (2017). Phytochimiques des plantes médicinales utilisées dans la prise en charge des maladies infantiles au Sud-Bénin. *European Scientific Journal*, 13(3), 471-488.
- Latimer GW. (2005) Official methods of analysis of AOAC International; Washington D.C; 771p.
- Ndong, M., Wade, S., Dossou, N., Guiro, A. T., & Gning, D. (2007). Valeur nutritionnelle du moringa oleifera, étude de la biodisponibilité du fer, effet de l'enrichissement de divers plats traditionnels sénégalais avec la poudre des feuilles. 7(3), 18-28.
- Neve, j., Chappuis, p., & Favier, a. (1995). Oligoéléments en thérapeutique : Maladies endocrinologiques. *Les oligo-éléments en nutrition et en thérapeutique*, 213-233.
- Ngom, S., Diop, M., Mbengue, M., Faye, F., & Kornprobst, J. M. (2015). Composition chimique et propriétés antibactériennes des huiles essentielles d'*Ocimum basilicum* et d'*Hyptis suaveolens* (L.) Poit récoltés dans la région de Dakar au Sénégal. 4(10); 109-117.
- Ocho-Anin Atchibri, A., Soro, L., Kouame, C., Agbo, E., & Kouadio, K. (2012). Valeur nutritionnelle des légumes feuilles consommés en Côte d'Ivoire. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 6(1), 128-135. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v6i1.12>
- Pauwels J., E. Van Ranst, M. Verloo et A. Mvondo (1992). Manuel d'Analyses de sols et de plantes. Equipements, Gestion de stocks, de verrerie et produits chimiques. Publications agricoles-28, AGCD, Bruxelles, Belgique. 265 p.
- Thiombiano, D. N. E., Lamien, N., Dibong, D. S., Boussim, I. J., & Belem, B. (2012). Le rôle des espèces ligneuses dans la gestion de la soudure alimentaire au Burkina Faso. *Science et changements planétaires/Sécheresse*, 23(2), 86-93.
- Ukpong, I., Abasiokong, B., & Etuk, B. A. (2014). Phytochemical-screening-and-mineral-elements-composition-of-xanthosoma-sagittifolium-inflorescence. *Journal of Plant Science and Research*, 6(4), 32-35.
- Yala, J.-F., Ntsameso-Mve-Mba, V., Issembe, Y. A., Lepengue, N. A., & Souza, A. (2016). Évaluation in vitro de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux d'*Eryngium foetidum* récolté dans la ville de Franceville. *Journal of Applied Biosciences*, 103, 9886-9893.

Développement de 2'-hydroxychalcones inhibiteurs de la cyclooxygénase-2

Gueye Rokhaya^{*1,2}, Andouard Déborah^{3,4}, Hantz Sébastien^{3,4}, Fagnere Catherine¹, Liagre Bertrand¹, Bernardaud L^{3,4}, Pouget Christelle¹, Diop Yérim Mbagnick², Duroux Jean-Luc¹, Alain Sophie^{3,4}

¹ PEIRENE EA 7500, Université de Limoges, Limoges, France

² Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontologie-Stomatologie, Université Cheikh Anta Diop, Dakar, Sénégal

³ INSERM, CHU Limoges, RESINFIT, U1092 Université de Limoges, Limoges, France

⁴ Centre National de Référence Herpèsvirus, Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Limoges, Limoges, France

* rokhaya2.gueye@ucad.edu.sn

Résumé

Introduction/Objectif. Les chalcones sont des produits naturels dont certains dérivés inhibent la COX-2 qui catalyse la production de PGE₂. L'étude s'est intéressée à la pharmacomodulation de la 2'-hydroxychalcone afin de développer des inhibiteurs de la COX-2.

Méthodologie. Les 2'-hydroxychalcones ont été synthétisées par condensation de Claisen-Schmidt. Des pharmacophores de la COX-2 (SO₂CH₃, SO₂NH₂) et substituants améliorant l'activité (Cl, CH₃) ont été introduits sur le squelette. Les composés ont été caractérisés par des méthodes analytiques : CCM, IRTF, UV, RMN, HRMS. L'inhibition de la production de PGE₂ a été quantifiée dans des macrophages par méthode immuno-enzymatique. Des tests ELISA avec détection fluorimétrique ont été réalisés pour doser la production de PGE₂. L'effet antiprolifératif a été déterminé par test au MTT. La cytotoxicité a été évaluée par détermination spectrophotométrique de l'activité de la LDH.

Résultats. La 2'-hydroxychalcone a inhibé la production de PGE₂ à 80,2%. Le composé portant l'association SO₂CH₃ et CH₃ a présenté un effet inhibiteur significatif (82,4%). Les 2'-hydroxychalcones possédant le groupement SO₂NH₂ associés à CH₃ ou Cl se sont révélés être des inhibiteurs puissants (77,5 et 88,9%). L'ensemble des composés n'étaient pas significativement cytotoxiques.

Conclusion. Quatre chalcones ont démontré une activité significative. Des études supplémentaires permettront de mieux caractériser leurs biodisponibilité et toxicité.

Mots Clés : 2'-hydroxychalcone ; cyclooxygénase-2 ; prostaglandine E₂

Development of 2'-hydroxychalcones as cyclooxygenase-2 inhibitors

Abstract

Introduction/Objective. Chalcones are natural products with anti-inflammatory properties. 2'-hydroxychalcone derivatives inhibit cyclooxygenase-2 (COX-2) which catalysed prostaglandin E₂ (PGE₂) production. Study examined 2'-hydroxychalcone pharmacomodulation in order to develop novel COX-2 inhibitors.

Methodology. 2'-hydroxychalcones were synthesized through Claisen-Schmidt condensation between appropriately substituted 2'-hydroxyacetophenones and benzaldehydes. COX-2 pharmacophores (SO₂CH₃, SO₂NH₂) and substituents that improve expected activity (Cl, CH₃) were introduced onto 2'-hydroxychalcone skeleton. Synthesized compounds were characterised thanks to analytical methods: TLC, FT-IR, UV, NMR, HRMS. Inhibition of PGE₂ production was quantified in RAW 264.7 murine macrophages by enzyme immunoassay. ELISA with fluorometric detection was performed for evaluation of PGE₂ production. Antiproliferative effect was determined using MTT assay. Cytotoxicity was assessed through spectrophotometric determination of LDH activity.

Results. 2'-hydroxychalcone exhibited 80.2% inhibition on PGE₂ production. Compound bearing SO₂CH₃ association with CH₃ presented a significant inhibitory effect (82.4%). Compounds possessing SO₂NH₂ in conjunction with CH₃ or Cl were found to be potent inhibitors (77.5 and 88.9%). All compounds were not significantly cytotoxic to macrophages: no or less than 10% reduction of MTT assay.

Conclusion. Four among seven designed chalcones demonstrated a significant activity against COX-2-catalyzed PGE₂ production. Additional studies are necessary in order to better characterize their bioavailability and toxicity.

Keywords: 2'-hydroxychalcone, cyclooxygenase-2, prostaglandin E₂

1. Introduction

L'inflammation représente l'un des mécanismes les plus importants de défense de l'organisme et peut être définie comme la réponse locale des tissus à toutes sortes d'agression [1].

Le traitement de l'inflammation fait appel à plusieurs thérapies parmi lesquelles l'administration des médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) [2]. Ces composés constituent une classe

thérapeutique fréquemment utilisée en pratique quotidienne, que ce soit dans le contexte de la prescription médicale ou celui de l'automédication [3, 4]. Ils présentent un mécanisme d'action commun qui a été élucidé en 1971 : l'inhibition de la cyclooxygénase (COX) [5].

La COX est une enzyme qui existe sous deux principales isoformes, la COX-1 et la COX-2. Elle permet la synthèse de médiateurs lipidiques qui sont produits à partir d'un acide gras présent dans les phospholipides membranaires.

La COX-1 est une isoforme constitutionnelle ayant un rôle physiologique majeur. La COX-2, découverte en 1991, est une isoforme inductible associée à l'apparition de phénomènes inflammatoires et qui possède un rôle physiopathologique [6,7].

À la fin des années 1990, le rofécoxib et le célécoxib, les deux premiers inhibiteurs sélectifs de la COX2, ont été mis sur le marché [8, 9]. Par la suite, d'autres inhibiteurs sélectifs de cette enzyme, tels que le valdécoxib et l'étoricoxib, ont été développés [10].

L'utilisation de ces composés, appartenant à la famille des AINS spécifiques de la COX-2, est associée à une amélioration de la sécurité gastro-intestinale par comparaison aux AINS traditionnels [8]. Cependant, les données de pharmacovigilance ont montré une augmentation de la survenue d'événements cardiovasculaires graves [4]. De ce fait, certains de ces AINS spécifiques de la COX-2, dont le rofécoxib et le valdécoxib, ont été retirés du marché [11].

Outre ces composés synthétisés, des molécules d'origine naturelle, telles que certains flavonoïdes, présentent une activité inhibitrice vis-à-vis de la COX-2 [12].

Les flavonoïdes sont des composés appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont très répandus dans le règne végétal et ainsi présents dans notre alimentation quotidienne. L'élément structural de base des flavonoïdes est constitué de deux noyaux aromatiques (A et B) reliés par une chaîne de trois atomes de carbone (**Figure 1**) [13-15].

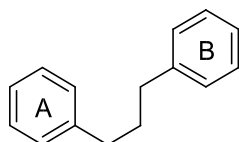


Figure 1 : Structure de base des flavonoïdes

Les différentes classes de flavonoïdes (anthocyanes, chalcones, flavanones, flavones, flavonols ...) présentent de nombreuses propriétés biologiques en plus de leur activité anti-inflammatoire [16]. Plusieurs mécanismes, dont l'inhibition de la COX-2, sont associés à cette propriété [17, 18]. Au vu de ces effets, la synthèse de nouveaux dérivés flavonoïdiques comme agents anti-inflammatoires et, plus particulièrement, comme inhibiteurs spécifiques de la COX-2 est apparue opportune.

Des travaux menés sur l'activité inhibitrice de dérivés de la chalcone sur la COX-2 ont montré l'effet favorable de la présence d'un pharmacophore (groupements méthylsulfone ou méthanesulfonamide) sur l'un des deux noyaux aromatiques, associée à un substituant (atome de fluor ou groupement méthyle) sur l'autre noyau [19,20].

L'objectif de notre travail a donc été d'entreprendre des modulations du squelette de la 2'-hydroxychalcone afin de développer de nouvelles molécules susceptibles de jouer un rôle dans la thérapie de l'inflammation, *via* une inhibition de la COX-2.

2. Matériel et méthodes

2.1. Synthèse et caractérisation des composés

Les 2'-hydroxychalcones ont été obtenues par la condensation de Claisen-Schmidt, réalisée en milieu basique et dans l'éthanol à reflux, entre des 2'-hydroxyacétophénone et des benzaldéhydes substitués (**Schéma 1**) [21].

La présence du pharmacophore sur la position 4 du noyau B des 2'-hydroxychalcones implique l'utilisation de benzaldéhydes substitués en *para* par un groupement méthylsulfone ou sulfonamide. En plus de ces pharmacophores, et dans le but d'augmenter l'activité biologique, la substitution du noyau A a également été envisagée en mettant en œuvre des 2'-hydroxyacétophénone diversément substituées par un atome de chlore ou un groupement méthyle.

Pour évaluer l'influence du pharmacophore ou du substituant sur l'activité biologique, le benzaldéhyde non substitué ($R^2 = H$) et la 2-hydroxyacétophénone non substituée ($R^1 = H$) ont également été utilisés.

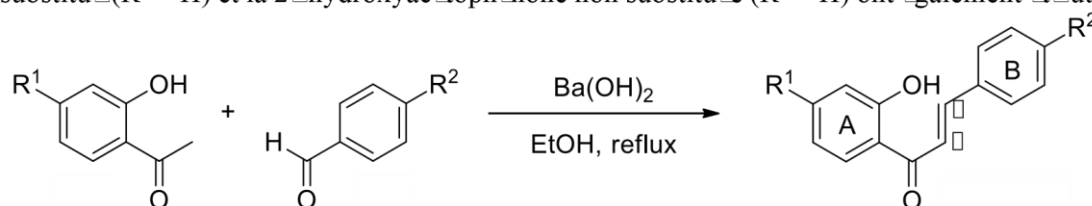


Schéma 1 : Synthèses des 2'-hydroxychalcones portant le pharmacophore sur le noyau B

Les condensations ont été mises en œuvre en utilisant 1 à 1,2 équivalent molaire de benzaldéhyde. La quantité d'hydroxyde de baryum utilisée, le temps de réaction et le rendement des synthèses effectuées sont présentés dans le **tableau 1**.

Composé	R^2	R^1	$Ba(OH)_2$	Temps de réaction	Rendement (%)
2	SO_2CH_3	H	1,2 éq	50 min	63
3	SO_2CH_3	CH_3	1,2 éq	3 h	37
4	SO_2CH_3	Cl	1,2 éq	2 h	66
5	SO_2NH_2	H	12 éq	7 h	50
6	SO_2NH_2	CH_3	12 éq	4 h	35
7	SO_2NH_2	Cl	12 éq	4 h	42

Tableau 1 : Synthèses des 2'-hydroxychalcones

La 2'-hydroxychalcone (1) était commercialement disponible ainsi que l'ensemble des 2'-hydroxyacétophénone et benzaldéhydes utilisés, à l'exception du 4-sulfamoylbenzaldéhyde. Ce composé a été synthétisé en effectuant la réduction de Stephen du 4-cyanobenzènesulfonamide avec du nickel de Raney dans l'acide formique (**Schéma 2**) [21].

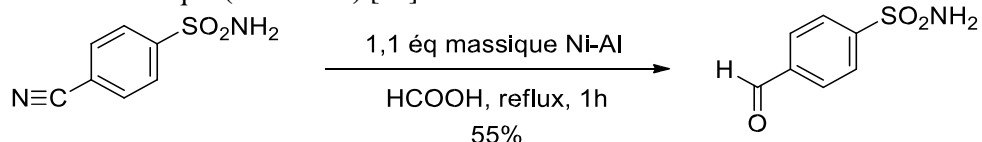


Schéma 2 : Synthèse du 4-sulfamoylbenzaldéhyde

Le suivi des réactions et des purifications a été réalisé par chromatographie sur couche mince (CCM) sur gel de silice.

Les purifications ont été mises en œuvre à l'aide de chromatographie préparative avec du gel de silice : CCM, sur colonnes ouvertes ou sous pression automatisée (chromatographie flash).

Les molécules pures ont été caractérisées par méthodes spectrométriques : ultraviolet (UV), infrarouge (IR), résonance magnétique nucléaire (RMN) et masse (SM).

2.2. Culture des macrophages murins RAW 264.7 et traitement

Les cellules RAW 264.7 sont obtenues à partir de l'« *American Type Culture Collection* » puis cultivées dans du « *Dulbecco's Modified Eagle Medium* » (DMEM) complété avec du sérum de veau fœtal (SVF), du D-glucose, de l'HEPES, de la pénicilline et de la streptomycine à 37°C en atmosphère humide de CO_2 5% / air atmosphérique 95%. A confluence, le tapis cellulaire est lavé par du tampon phosphate salin stérile ou PBS pH 7,4 puis, toujours en présence de PBS, les cellules sont grattées. Les cellules dissociées sont centrifugées en présence de DMEM complet et réensemencées. Le milieu de culture est changé tous les 2 jours.

La viabilité, mesurée par le test d'exclusion au bleu trypan au début et à la fin de chaque culture, est toujours supérieure à 95% de cellules.

Pour toutes les expériences, les cellules sont laissées dans du milieu de culture DMEM pendant 48 h. Les cellules sont prétraitées avec les molécules pendant 2 h puis incubées en présence de

lipopolysaccharide (LPS, 1 µg/mL) pendant 4 h. La même quantité de DMSO (<1%) est rajoutée aux cellules témoins [21].

2.3. Essai anti-prolifératif sur macrophages murins RAW 264.7

L'effet anti-prolifératif des molécules a été déterminé en utilisant le bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazolium (MTT). Des macrophages murins RAW 264.7 ont été ensemencés dans des plaques de culture à 96 puits et cultivés pendant 24 h, dans un milieu de culture avant d'être exposés ou non aux molécules. Le test MTT a été réalisé 24 h après traitement ; la viabilité cellulaire a été exprimée en pourcentage en normalisant par rapport aux cellules non traitées [21].

2.4. Inhibition de la production de PGE₂ dans les macrophages murins RAW 264.7

Les macrophages murins RAW 264.7 ont été ensemencés à raison de 2.10⁵ cellules/puits pendant 24 h avant ajout de 10 µM de chaque produit. Après 2 h, le LPS (10 ng/mL) a été introduit dans le milieu de culture pendant 24 h. Les niveaux de PGE₂ ont été quantifiés dans les surnageants du milieu de culture des cellules traitées et témoins par dosage immuno-enzymatique à l'aide d'un kit EIA. Les pourcentages d'inhibition des composés sur la production de PGE₂ ont été calculés, en considérant que celui du NS398 (N-(2-cyclohexyloxy)-4-nitrophénylméthanesulfonamide), inhibiteur sélectif de la COX-2 utilisé comme référence, était de 100%, à partir de la formule suivante [21] :

$$\% \text{ inhibition} = 100 \times \left[1 - \frac{\text{PGE}_1 \text{ du groupe traité par le LPS}}{\text{PGE}_1 \text{ du groupe traité par le LPS}} \right]$$

2.5. Test ELISA pour l'évaluation de la production de PGE₂

Les différents composés ont été ajoutés à une concentration de 4 fois la concentration efficace médiane (CE₅₀), sur une plaque MRC-5 à 48 puits, avec ou sans AD169-GFP (souche de laboratoire de cytomégalovirus humain fluorescente). Après 5 jours d'incubation, les surnageants ont été analysés en utilisant un kit ELISA PGE₂ selon le protocole du fabricant. Les standards, contrôles et surnageants ont été ajoutés à une plaque à 96 puits pré-enduite d'un anticorps IgG de souris et d'un anticorps anti-PGE₂ conjugué à la phosphatase alcaline (AP). Après incubation, l'excès de réactifs a été éliminé par lavage. Le substrat pNpp a été ajouté et catalysé par l'AP pour produire une coloration jaune. L'intensité de cette dernière était inversement proportionnelle à la quantité de PGE₂ capturée dans la plaque. Les plaques ont été lues en utilisant une longueur d'onde d'excitation de 405 nm [21].

2.6. Test de cytotoxicité sur MRC-5

La toxicité des composés a été mesurée en utilisant le test de cytotoxicité CytoTox96 Non-Radioactif, sur des cellules MRC-5 confluentes ou à 10%. Ce test détermine l'activité de la lactate déshydrogénase (LDH) dans les cellules résiduelles après incubation avec le produit testé. Cinq jours après le traitement, cette activité a été évaluée en mesurant l'absorbance à 490 nm par rapport aux puits de contrôle (même concentration de composé sans cellules). La cytotoxicité cellulaire (CC₅₀ et CC₉₀) a été déterminée graphiquement comme la concentration de molécule provoquant la mort cellulaire (à 50% et 90%). L'indométacine a été utilisée comme AINS de référence [21].

3. Résultats et discussion

3.1. Inhibition de la production de PGE₂ dans les macrophages murins RAW 264.7

La 2'-hydroxychalcone (1) a présenté une inhibition de 80,2% sur la production de PGE₂. De façon surprenante, la 2'-hydroxy-4-méthylsulfonylchalcone (2) induisait cette production. Le composé 3, portant le pharmacophore méthylsulfonyl sur le noyau B en association avec un groupe 4'-méthyl sur le noyau A, a présenté un effet inhibiteur significatif contre la production de PGE₂. De plus, le 4'-chloro-2'-hydroxy-4-méthylsulfonylchalcone (4) a montré une plus faible activité contre la production de PGE₂ par rapport à la 2'-hydroxychalcone (1). De la même manière, la 2'-hydroxy-4-sulfamoylchalcone (5), avec le pharmacophore sulfonamide COX-2 sur le noyau B, a présenté un effet inhibiteur plus faible que la 2'-hydroxychalcone (1) tandis que les composés 6 et 7 possédant ce groupement sulfonamide sur le noyau B en conjonction avec, respectivement, un 4'-méthyl et un 4'-chloro sur le noyau A se sont avérés être de puissants inhibiteurs de la production de PGE₂. Par conséquent, la capacité des

groupements sulfonamide et méthylsulfone en position *para* à être un pharmacophore de la COX-2 dépend de la nature des autres substituants. La 4'-chloro-2'-hydroxy-4-sulfamoylchalcone (7) a montré la meilleure inhibition de la production de PGE₂ (88,9%), se rapprochant du NS-398 (100 %) (**Tableau 2**).

Par ailleurs, l'ensemble des composés testés n'ont montré aucune ou moins de 10% de réduction du test MTT, ce qui indique qu'ils n'étaient pas significativement cytotoxiques pour les macrophages murins RAW 264.7 en présence ou en l'absence de LPS. Par conséquent, l'inhibition de la production de PGE₂ de ces cellules par les 2'-hydroxychalcones ne pourrait pas être associée à un mécanisme cytotoxique [21].

Tableau 2. Inhibition de la production de PGE₂ catalysée par la COX-2

Composé ^a	R ₁	R ₂	Inhibition de production de PGE ₂ (%) ^b
Chalcone 1	H	H	80,2 ± 9,6
Chalcone 2	H	SO ₂ CH ₃	n.d. ^c
Chalcone 3	CH ₃	SO ₂ CH ₃	82,4 ± 8,1
Chalcone 4	Cl	SO ₂ CH ₃	40,8 ± 7,9
Chalcone 5	H	SO ₂ NH ₂	54,7 ± 7,5
Chalcone 6	CH ₃	SO ₂ NH ₂	77,5 ± 7,3
Chalcone 7	Cl	SO ₂ NH ₂	88,9 ± 7,3
NS-398			100

^a Composés testés à 10 µM ^b n = 3 ^c Non déterminé. Observation d'un effet promoteur de la production de PGE₂

Les composés 1, 3, 6 et 7 ont été sélectionnés pour les essais suivants, car ayant démontré une efficacité significative contre la production de PGE₂.

3.2. Test de cytotoxicité

Les chalcones étaient plus toxiques dans les cellules confluentes que dans celles en croissance. L'indométacine a atteint une CC₅₀ de 2 mM dans les fibroblastes en croissance, mais était plus toxique dans les cellules confluentes (CC₅₀ = 250 µM). Les chalcones avaient une toxicité plus élevée que celle de l'indométhacine. Parmi toutes les molécules, le composé 3 était le plus toxique : CC₅₀ de 41,7 µM dans les cellules en croissance et de 50 µM dans les cellules confluentes. La chalcone 7 (CC₅₀ de 1500 µM dans les cellules en croissance et de 185 µM dans les cellules statiques) était comparable à l'indométacine (**Tableau 3**) [21].

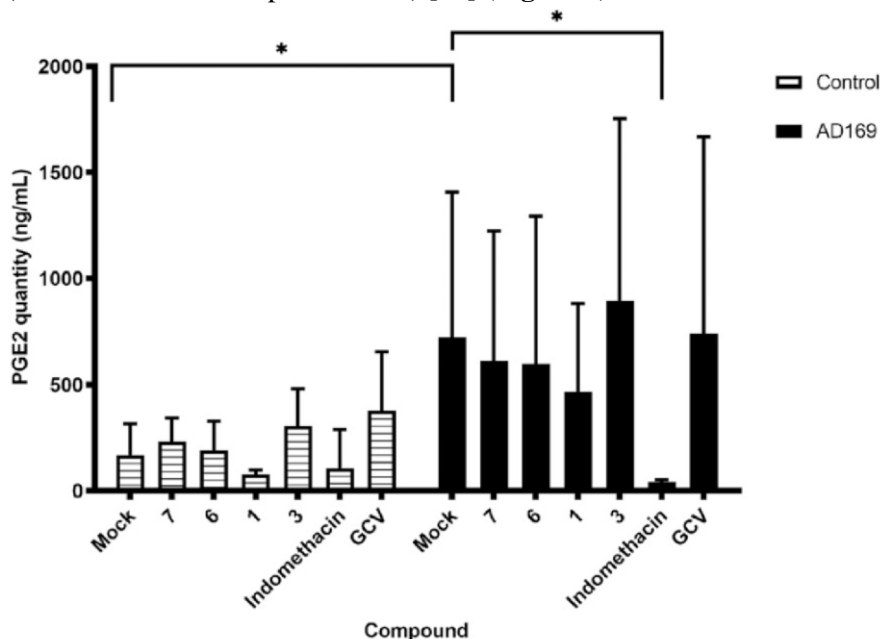
Tableau 3. Concentrations cytotoxiques à 50 % (CC₅₀) et à 90 % (CC₉₀) dans les cellules MRC-5 en croissance et confluentes

Composé	CC ₅₀ sur fibroblastes en croissance (µM)	CC ₅₀ sur fibroblastes confluentes (µM)	CC ₉₀ sur fibroblastes en croissance (µM)	CC ₉₀ sur fibroblastes confluentes (µM)
Chalcone 1	165 ± 18	62,5 ± 1,8	> 2000	175
Chalcone 3	41,7 ± 3,8	50 ± 14,1	> 2000	95
Chalcone 6	145 ± 32	115 ± 53	> 2000	650
Chalcone 7	1500	185 ± 3,5	> 2000	750
Indométacine	> 2000	250	> 2000	600

3.3. Impact des molécules sur la production de PGE₂ dans les fibroblastes MRC-5

Nous avons observé une augmentation de 4,3 fois de la quantité de PGE₂ dans les cellules infectées par rapport au contrôle. L'ajout des chalcones 7, 6 et 1 aux cellules infectées diminue légèrement la quantité de PGE₂ (1,2 à 1,5 fois). Nous n'avons observé aucun impact pour la chalcone 3 et le ganciclovir (antiviral de référence). Une forte diminution a été observée avec l'indométacine ajoutée aux cellules

infectées (17,6 fois). La chalcone 1 et l'indométacine ont diminué la quantité de PGE₂ dans les cellules non infectées (2,2 fois et 1,5 fois respectivement) [21] (**Figure 2**).



Mock : contrôle sans composé. AD169 : cellules infectées par la souche de laboratoire de cytomégalo virus humain AD169. GCV : ganciclovir. n = 3 expériences indépendantes

Figure 2. Quantité de PGE₂ sur les surnageants des cellules MRC-5 infectées ou non par le HCMV en fonction des composés

4. Conclusion

Dans la présente étude, sept 2'-hydroxychalcones ont été synthétisées, caractérisées et testées pour leur activité contre la production de PGE₂ catalysée par la COX-2. L'inhibition de cette production n'est pas associée à un mécanisme cytotoxique. Quatre composés ont démontré une activité significative. Des études supplémentaires sont en cours afin de mieux caractériser leur biodisponibilité. Ils sont également testés contre l'infection au cytomégalo virus humain, cette dernière affectant les voies de l'inflammation, en particulier la production de PGE₂ *via* la COX-2.

5. Bibliographie

- [1] Russo-Marie F., Peltier A.-P., Polla B. S. In *L'inflammation*; John Libbey Eurotext: Paris, 1998, p 21-130.
- [2] Russo-Marie F., Peltier A.-P., Polla B. S. In *L'inflammation*; John Libbey Eurotext: Paris, 1998, p 523-553.
- [3] Jouzeau J.-Y., Daouphars M., Benani A., Netter P. *Gastroentérologie Clinique et Biologique* 2004, 28 (Supplement 2), 7-17.
- [4] Lelong H., Ly C., Blacher J. *Médecine des Maladies Métaboliques* 2012, 6 (1), 19-24.
- [5] Jouzeau J.-Y., Blain H., Daouphars M., Gillet P. *La lettre de l'hépatogastroentérologue* 2001, IV (2), 92-96.
- [6] Botting R. M. *Journal of Thermal Biology* 2006, 31 (1-2), 208-219.
- [7] Rouzer C. A., Marnett L. J. *Journal of Lipid Research* 2009, 50 (Supplement), 29-34.
- [8] Scheen A. J. *Revue médicale de Liège* 2004, 59 (10), 565-569.
- [9] Brueggemann L. I., Mani B. K., Mackie A. R., Cribbs L. L., Byron K. L. *Molecular and Cellular Pharmacology* 2010, 2 (1), 15-19.
- [10] Chakraborti A. K., Garg S. K., Kumar R., Motiwala H. F., Jadhavar P. S. *Current Medicinal Chemistry* 2010, 17 (15), 1563-1593.
- [11] Marnett L. J. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 2009, 49, 265-290.
- [12] Perera P., Ringbom T., Huss U., Vasange M., Bohlin L. In *Bioactive compounds from natural sources*; Tringali C., Ed.; Taylor & Francis Ltd.: London, 2001, p 433-472.

- [13] Bruneton J. In Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales, 4ème ed.; Technique & Documentation Lavoisier: Paris, 2009, p 366-422.
- [14] Jaganath I. B., Crozier A. In Plant Metabolism and Biotechnology, 1st ed.; Ashihara H., Crozier A., Komamine A., Eds.; John Wiley & Sons, Ltd, 2011, p 293-320.
- [15] Stoclet J. C., Schini-Kerth V. Annales Pharmaceutiques Françaises 2011, 69 (2), 78-90.
- [16] Prasad S., Phromnoi K., Yadav V. R., Chaturvedi M. M., Aggarwal B. B. Planta Medica 2010, 76 (11), 1044-1063.
- [17] García-Lafuente A., Guillamón E., Villares A., Rostagno M. A., Martínez J. A. Inflammation Research 2009, 58 (9), 537-552.
- [18] Kim H. P., Son K. H., Chang H. W., Kang S. S. Journal of Pharmacological Sciences 2004, 96 (3), 229-245.
- [19] Zarghi A., Arfaee S., Rao P. N. P., Knaus E. E. Bioorganic & Medicinal Chemistry 2006, 14 (8), 2600-2605.
- [20] Zarghi A., Zebardast T., Hakimion F., Shirazi F. H., Praveen Rao P. N., Knaus E. E. Bioorganic & Medicinal Chemistry 2006, 14 (20), 7044-7050.
- [21] Andouard D., Gueye R., Hantz S., Fagnere C., Liagre B., Bernardaud L., Pouget C., Duroux J.-L., Alain S.. Antiviral Therapy 2021, 26 (6-7-8), 117-125.

Etude phytochimique et activité antioxydante comparative des extraits du tronc et des racines de *strychnos innocua*

Mawaté Florance Brukum¹, Kafui Kpegba^{1*}, Amegnona Agbonon², Oudjaniyobi Simalou¹

1 : Laboratoire de Chimie Organique et des Substances Naturelles (Lab COSNat), Faculté des Sciences, Université de Lomé, 01 BP 1515 Lomé 01, Lomé-Togo ;

2 : Laboratoire de Physiologie/pharmacologie, Faculté des Sciences, Université de Lomé 01 BP 1515 Lomé 01, Lomé-Togo.
E-mail : brukumfleur@yahoo.fr

RESUME

Strychnos innocua est une plante de la famille des *Loganiaceae*, utilisée à des fins pharmacologiques diverses [1]. Les racines fraîches sont utilisées entre autres pour traiter les morsures de serpent [2]. Dans le but de valoriser l'utilisation de cette plante, les extraits hydroéthanolique et éthanoliques des écorces du tronc et de la racine ont fait l'objet d'une étude phytochimique comparative. Le screening phytochimique a été réalisé grâce aux réactions de précipitation et de coloration. La teneur en polyphénols a été déterminée grâce au réactif du Folin-Ciocalteu et celle des flavonoïdes par $AlCl_3$. L'activité antioxydante a été évaluée par les méthodes de DPPH et FRAP [3]. Les résultats du screening phytochimique ont révélé la présence des alcaloïdes, flavonoïdes et tanins dans les deux organes. Les teneurs les plus élevées en polyphénols ont été mesurées dans l'extrait hydroéthanolique des racines ($59,31 \pm 1,77$ mgEAG/g) et l'extrait éthanolique du tronc ($98 \pm 2,44$ mgEQ/g). Dans le même ordre, l'extrait hydroéthanolique des racines et l'extrait éthanolique du tronc ont présenté des teneurs élevées en flavonoïdes. Les extraits des racines ont un pouvoir antioxydant faible comparativement à ceux du tronc. La présence des métabolites secondaires, la forte teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante que possède cette plante justifieraient son utilisation en médecine traditionnelle.

Mots clés : *Strychnos innocua*, screening phytochimique, activité antioxydante, polyphénols, flavonoïdes.

Abstract

Strychnos innocua is a plant of the *Loganiaceae* family, used for various pharmacological purposes [1]. The fresh roots are used among other things to treat snake bites. [2]. In order to valorise the use of this plant, the hydroethanolic and ethanolic extracts of the trunk bark and the root were subjected to a comparative phytochemical study. The phytochemical screening was carried out by means of precipitation and staining reactions. The polyphenol content was determined by Folin-Ciocalteu reagent and the flavonoid content by $AlCl_3$. Antioxidant activity was assessed by DPPH and FRAP methods [3]. The results of the phytochemical screening revealed the presence of alkaloids, flavonoids and tannins in both organs. The highest contents of polyphenols were measured in the hydroethanol extract of the roots (59.31 ± 1.77 mgEAG/g) and the ethanol extract of the trunk (98 ± 2.44 mgEQ/g). In the same order, the hydroethanolic root extract and the ethanolic trunk extract showed high flavonoid contents. The root extracts have a low antioxidant power compared to the trunk extracts. The presence of secondary metabolites, the high content of phenolic compounds and the antioxidant activity of this plant would justify its use in traditional medicine.

Key words: *Strychnos innocua*, phytochemical screening, antioxidant activity, polyphenols, flavonoids.

1) Introduction

Durant des siècles et même des millénaires, nos ancêtres ont utilisé les plantes pour soulager leurs douleurs, guérir leurs maux et panser leurs blessures. Même actuellement, malgré le progrès de la pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde et surtout les pays en voie de développement [4]. Ces plantes médicinales constituent une alternative idéale aux médicaments chimiques qui sont souvent trop chers à acheter pour les pays en voie de développement [5]. L'efficacité avérée de ces plantes dans le traitement de nombreuses pathologies a amené les chercheurs à se pencher sur les propriétés pharmacologiques des plantes. Au Togo, plusieurs plantes dont le *Strychnos innocua* sont utilisées par les populations dans le traitement de diverses pathologies.

L'association des racines et feuilles de *strychnos innocua* est utilisée dans le traitement de céphalée, toux, méningite, lumbago, abcès. Les écorces quant à elles sont utilisées pour le traitement de gastrite, douleurs abdominales, otite, ulcère phagédénique [6]. Certaines études ont montré que le *Strychnos innocua* est riche en alcaloïdes. Une étude récente réalisée au Nigéria, a permis d'identifier dans l'extrait d'acétate d'éthyle des écorces de racine, 37 composés [2].

Malgré les multiples utilisations traditionnelles des organes du *Strychnos innocua*, on constate que peu de chercheurs se sont intéressés à l'étude de cette plante. Ainsi, notre étude a pour objectif de contribuer à la valorisation scientifique de quelques organes de cette plante par une étude phytochimique comparative et une activité oxydante.

2) Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal

La plante *Strychnos innocua* a été récoltée en Avril 2021 à Kanté dans la région de la Kara. Elle est identifiée par le département de Botanique de la Faculté des Sciences de l'Université de Lomé. Les écorces de tronc et de racines de la plante sont récoltées, lavées et séchées au laboratoire à la température ambiante. Elles sont ensuite broyées avec un moulin de marque Thomas Muler série 4, référence 3375 E20.

2.2. Préparation des extraits

Les différentes extractions sont faites à raison de 100 g de matériel végétal pour 1L de solvant (éthanol/eau : 80/20 : v/v et éthanol (96%)) sous agitation manuelle par intermittence pendant 72 heures. Après 72 heures les extraits sont filtrés puis évaporés à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif (BUCHI, Suisse) sous vide à 40°C.

2.3. Screening phytochimique

Le criblage des grands groupes phytochimiques est effectué sur les poudres de l'écorce de tige et de racines de *Strychnos innocua* par une analyse phytochimique qualitative à partir des tests de coloration et de précipitation [7].

2.4. Dosage des polyphénols

Le dosage des polyphénols est déterminé par spectrophotométrie, selon la méthode colorimétrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait.

Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par **Ali-RACHEDI *et al.*, (2018)** en y apportant quelques modifications. Dans des tubes à essai en verre, un volume de 200 µL de chaque extrait est ajouté, avec un mélange de 1 mL de réactif Folin-Ciocalteu dilué 10 fois, après 5 min d'agitation on y ajoute 800 µL d'une solution de carbonate de sodium à 7,5 %. Les tubes sont agités et conservés pendant 30 min. L'absorbance est lue à 765 nm et les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par g d'extrait (mg EAG/g).

2.5. Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes est effectuée par une méthode basée sur la formation d'un complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes. Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par **Ali-RACHEDI *et al.*, (2018)** avec quelques modifications.

Un volume de 100 µL d'extraits, préparés dans l'éthanol, est mélangé avec 0,4 mL d'eau distillée et par la suite avec 0,03 mL d'une solution de nitrite de sodium NaNO₂ à 5%. Après 5 min, 0,02 mL d'une solution d'AlCl₃ à 10% a été ajouté. On additionne au mélange 0,2 mL de solution de Na₂CO₃ (1 M) et 0,25 mL d'eau distillée après 5 min de repos. L'ensemble est agité à l'aide d'un vortex et l'absorbance a été mesurée à 510 nm sur un spectrophotomètre UV-visible (Thermo Fisher Scientific) contre un blanc. La concentration en flavonoïdes totaux est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la Quercétine (0 - 500 µg/mL). Les résultats sont exprimés en mg équivalent de quercétine par g d'extrait (mg EQ/g).

2.6. Activité antioxydante

2.6.1. Test au DPPH

Le DPPH (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyle) est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale libre et la simplicité de l'analyse. Il absorbe dans le visible à la longueur d'onde de 517 nm. Le protocole expérimental suivi

pour étudier l'activité du piégeage du radical libre DPPH est celui décrit par McCune et Johns (2002), légèrement modifié par Dosseh *et al.* (2014).

2.6.2. Test FRAP (Ferric Reducing Ability Power)

Le pouvoir réducteur du fer III dans les extraits est déterminé selon les méthodes décrites dans la littérature [9], [10].

2.7. Analyses statistiques

Les résultats de nos différents tests sont traités grâce aux logiciels Excel 2019 et GraphPad® 8.0.2 puis exprimés en moyenne \pm ESM (Erreur Standard de la Moyenne).

3) Resultats

3.1. Rendements

Les rendements des extractions des phyto-constituants obtenus après épuisement à l'éthanol et à l'éthanol (80 %), ont permis d'obtenir les résultats consignés dans le **Tableau 1**.

Tableau 11: Rendement d'extraction des extraits

	Ecorces de racine	Ecorces de tronc
Ethanol	3,25 %	3,59 %
Ethanol-Eau (80-20)	21,86 %	15,68 %

3.2. Screening phytochimique

Le screening phytochimique réalisé révèle la présence de presque tous les éléments recherchés (alcaloïdes, tanins, anthocyanes, flavonoïdes, hétérosides, saponosides, stérols et terpénoïdes) sauf les anthraquinones, dans les écorces de racines et les saponosides dans les écorces du tronc (**Tableau 2**).

Tableau 12: Résultats du screening phytochimique

Constituants phytochimiques	SIR	SIT
Alcaloïdes	+	+
Tanins	+	+
Tanins galliques	+	+
Anthocyanes	+	+
Flavonoïdes	+	+
Saponosides	+	-
Hétérosides	+	+
Anthraquinones	-	+
Stérols et terpénoïdes	+	+

(-) réaction négative ; (+) réaction positive ; SIR : Strychnos Innocua écorce de Racine ; SIT : Strychnos Innocua écorce de Tronc

3.3. Dosage des polyphénols

La quantification des phénols totaux est déterminée à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée en prenant l'acide gallique comme référence. Les valeurs obtenues sont exprimées en mg d'Equivalent d'acide Gallique/g d'extrait sec. Les teneurs les plus élevées en polyphénols sont mesurées dans l'extrait des écorces du tronc ($76,96 \pm 1,77$ mgEAG/g) pour le solvant hydroéthanolique (HE) et dans l'extrait d'écorces du tronc ($98,27 \pm 2,44$ mgEQ/g) pour le solvant éthanolique (ETOH) (**Figure 1**).

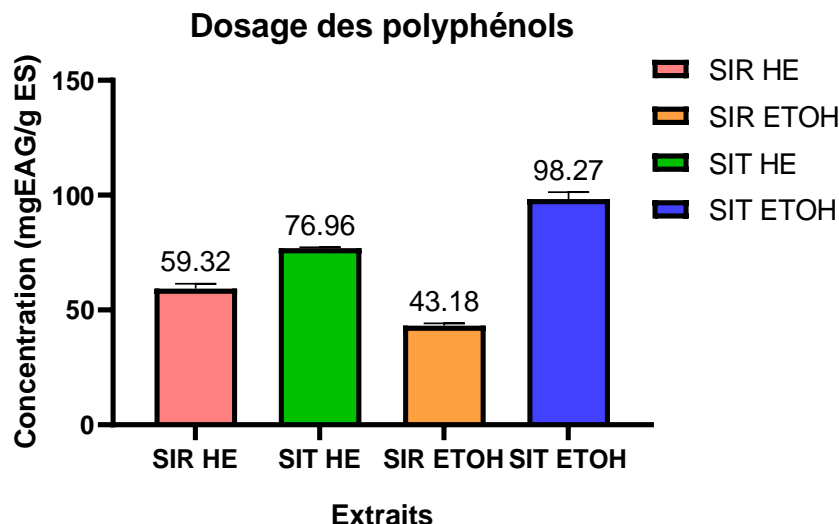


Figure 8: Dosage des polyphénols

3.4. Dosage des flavonoïdes

Les résultats obtenus après le dosage des flavonoïdes dans les différents extraits de nos deux organes, en utilisant la méthode au trichlorure d'aluminium, sont rapportés sur la **Figure 2**. Il ressort que pour le même solvant hydroéthanolique c'est l'extrait des écorces de racines qui présente la teneur la plus élevée en flavonoïde ($178,21 \pm 7,37$ mg EQ/g ES), tandis que pour le solvant éthanolique c'est l'extrait des écorces du tronc qui indique une teneur élevée ($213 \pm 5,45$ mg EQ/g ES).

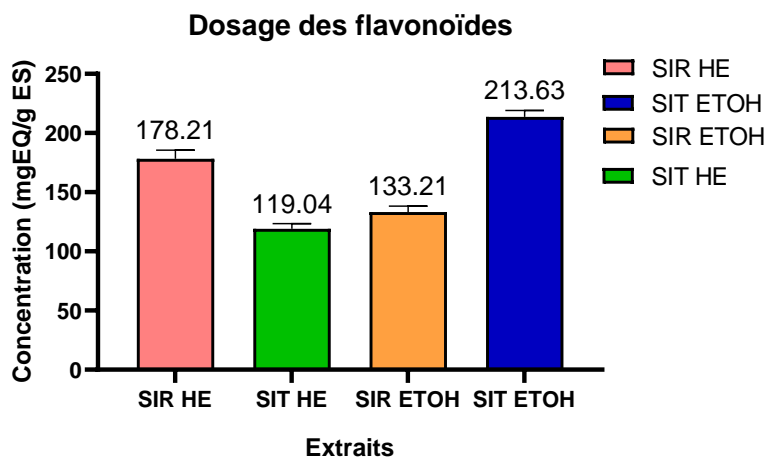


Figure 9: Dosage des flavonoïdes

3.5. Activité antioxydante

3.5.1. Test au DPPH

Les résultats obtenus lors du test au DPPH des différents extraits sont consignés sur la **Figure 3**. Les valeurs de la CI_{50} obtenues sont (en $\mu\text{g/ml}$) : 70,27 ; 1783 ; 1907,5 ; 718,80 ; 1038 respectivement la quercétine (molécule de référence), extrait hydroéthanolique de racine, l'extrait éthanolique de racine, l'extrait hydroéthanolique d'écorces de tronc et l'extrait éthanolique d'écorces de tronc.

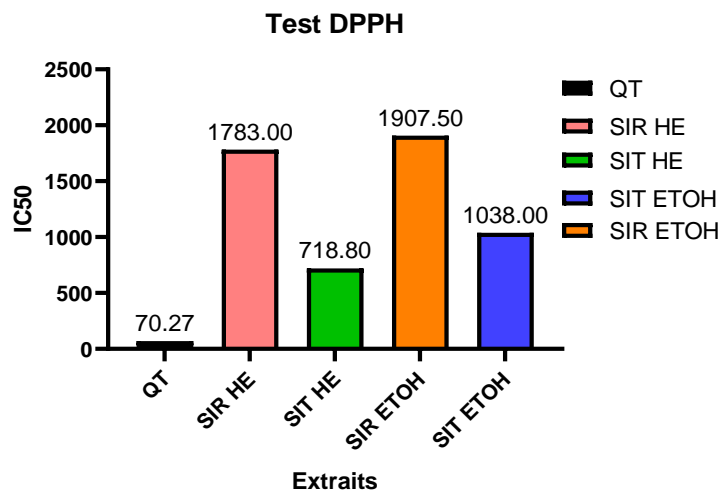


Figure 10: Test DPPH

3.5.2. Test FRAP

Les résultats de l'activité antioxydante, effectuée par la méthode FRAP, des différents extraits, révèlent que pour les écorces de racines et de tronc, ce sont les extraits hydroéthanolique qui présentent une forte réduction de Fe^{3+} respectivement $1087 \pm 34,02 \mu\text{mol/ml}$ et $2152,33 \pm 20,342 \mu\text{mol/ml}$ (Figure 4). De plus, on observe qu'avec les deux solvants d'extraction (hydroéthanolique et éthanolique) c'est l'extrait des écorces du tronc qui a réduit fortement l'ion Fe^{3+} .

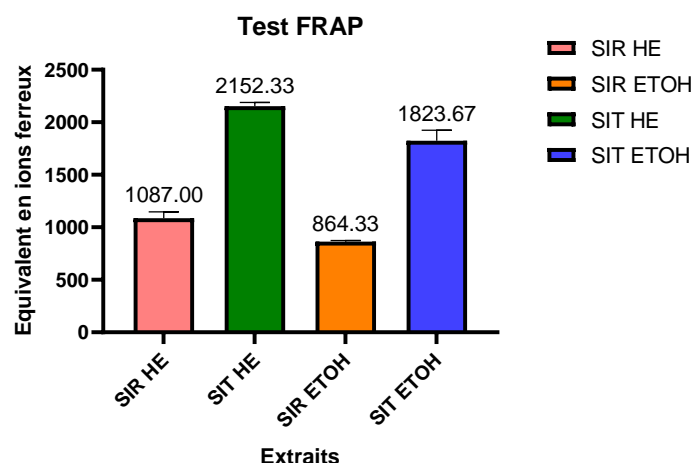


Figure 11: Test FRAP

4) Discussion

Les objectifs de ce travail étaient de réaliser une étude phytochimique comparative et de mettre en évidence l'activité antioxydante des extraits éthanolique et hydroéthanolique des écorces de racines et de tronc de *Strychnos innocua*, une plante peu connue. Dans un premier temps, les rendements des extraits éthanolique et hydroéthanolique d'un même organe ont été comparés. Il ressort que le taux d'extraction avec le solvant hydroéthanolique est supérieur à celle de l'éthanol. Le solvant influence donc fortement le taux d'extraction. De plus, pour le même solvant utilisé pour différents organes (écorces de racine et de tronc) on observe une différence du taux d'extraction, cela signifie donc que le taux d'extraction dépendrait de l'organe utilisé. Certains travaux ont montré que l'eau combiné à l'éthanol permet une meilleur extraction des composés [11].

Le screening phytochimique réalisé sur les deux organes a révélé la présence des alcaloïdes, flavonoïdes, tanins, anthocyanes, hétérosides et stérols. Ces composés sont tous connus comme étant les principaux constituants responsables de l'activité antioxydante des plantes (Favier, 2003). Cependant, on note l'absence des anthraquinones dans les racines ainsi que des saponosides dans l'écorce de tronc. La richesse de l'espèce *S. innocua* en ces grands groupes de composés chimiques actifs pourrait alors

justifier l'utilisation traditionnelle de cette plante pour soigner de nombreuses maladies telles que : la constipation, douleur abdominale, tuberculose pulmonaire, rhumatisme... [12].

Les résultats du dosage des polyphénols (Figure 1) montrent que l'extrait hydroéthanolique des écorces de racine contient un fort taux de polyphénols ($59,31 \pm 1,77$ mgEAG/gES) comparé à leur extrait éthanolique ($43,18 \pm 0,973$ mgEAG/gES). Par contre, pour les écorces du tronc c'est l'extrait éthanolique qui présente un fort taux de polyphénols ($98 \pm 1,728$ mgEAG/gES). On note que quel que soit le solvant d'extraction (hydroéthanolique ou éthanolique) la teneur la plus élevée en polyphénols se retrouve dans les extraits d'écorces de tronc. Il faut quand même relever que la variation de la teneur en polyphénols en fonction de l'organe est importante. Les teneurs en polyphénols des écorces du tronc dans les deux solvants sont les plus élevées ($89,115$ mgEAG/gES en moyenne). Plusieurs facteurs peuvent influencer sur la teneur en composés phénoliques. La répartition qualitative et quantitative des composés phénoliques est inégale selon les espèces, les organes, les tissus et les stades physiologiques [13]. Le contenu phénolique d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques et extrinsèques [14].

L'analyse de la Figure 2, montre que la teneur en flavonoïdes totaux varie d'un extrait hydroéthanolique à un extrait éthanolique et aussi d'un organe de la plante à un autre. Pour les extraits hydroéthanolique c'est l'extrait des écorces de racine qui présente une forte teneur en flavonoïdes totaux ($178,208 \pm 7,372$ mgEQ/g ES). Mais pour les extraits éthanoliques, c'est l'extrait des écorces de tronc qui a une forte teneur en flavonoïdes totaux ($213,625 \pm 5,449$ mgEQ / g ES). Certains auteurs indiquent que la teneur des flavonoïdes dans les extraits de la plante, dépend de la polarité des solvants utilisés dans la préparation des extraits [15]. Globalement on constate que les écorces de tronc ont une forte teneur en flavonoïdes totaux (soit $166,34$ mgEAG/gES en moyenne) comparé aux écorces de racines ($155,71$ mgEAG/gES en moyenne). Cette inégale répartition des flavonoïdes pourrait s'expliquer par le fait que les écorces de tronc sont plus exposées au soleil que les racines. En effet, certains études ont montré que les flavonoïdes assureraient la protection des tissus de la plante contre les effets nocifs du rayonnement solaire [16].

Le test au DPPH des extraits des deux organes de *S. innocua* (Figure 3) montre une activité antioxydante de ceux-ci. Les valeurs de la CI_{50} (concentration inhibitrice à 50%) obtenues permettent de classer la capacité de piégeage du radical DPPH par les extraits testés par rapport à la quercétine et entre elles. Les résultats indiquent que pour les écorces de racine, les extraits hydroéthanolique et éthanolique ont une valeur de la CI_{50} égale à respectivement 1783 et $1907,50$ $\mu\text{g/ml}$. De même, on obtient une valeur de la CI_{50} respectivement égale à $718,80$ et 1038 $\mu\text{g/mL}$ pour l'extrait hydroéthanolique et éthanolique des écorces de tronc. La CI_{50} de la molécule de référence, la quercétine, est de $70,27$ $\mu\text{g/mL}$. Le pouvoir antioxydant est inversement proportionnel à la valeur de la CI_{50} , ce qui implique donc que nos extraits ont un faible pouvoir antioxydant comparé à la référence (quercétine). De plus, on remarque qu'indépendamment des solvants d'extraction les extraits des écorces de tronc présentent une meilleure activité antioxydante comparativement aux extraits des écorces de racines. Cela pourrait être dû à la forte teneur en polyphénols observés dans les différents extraits d'écorces de tronc.

En outre, le test FRAP est réalisé afin d'évaluer le pouvoir réducteur des extraits des deux organes. Les résultats (Figure 4) ont montré que ce sont les extraits hydroéthanolique qui ont présenté un meilleur pouvoir réducteur égale à 1087 ± 34 $\mu\text{mol/ml}$ pour les racines et $2152,33 \pm 20$ $\mu\text{mol/mL}$ pour le tronc. Ces résultats confirment ceux obtenus avec le test DPPH. La présence des réducteurs dans les extraits de la plante provoque la réduction de l'ion Fe^{3+} à la forme Fe^{2+} . Le pouvoir réducteur des extraits de *S. innocua* est probablement dû à la présence de groupements hydroxyles dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneur d'électrons. Les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants [17].

5) Conclusion

Le présent travail a permis d'effectuer une étude phytochimique sur les extraits des écorces de racine et de tronc de *S. innocua*. La caractérisation des grands groupes chimiques de ces extraits contribue à leur valorisation dans le dessein d'une meilleure exploitation de la plante. Les rendements d'extractions les plus élevés sont obtenus avec les extraits hydroéthanolique des deux organes, cela implique que le solvant hydroéthanolique est le meilleur solvant d'extraction. L'étude de l'activité antioxydante des extraits hydroéthanolique et éthanolique issus des écorces de racine et de tronc de *S. innocua* selon les méthodes FRAP et de DPPH a montré que les deux organes possèdent des activités antioxydantes. De

plus les extraits hydroéthanolique des deux organes présentent une activité antioxydante plus appréciable que les extraits éthanoliques, cela est due en partie de la forte teneur en polyphénols. L'ensemble des résultats obtenus révèle que les écorces de tronc ont une activité antioxydante plus appréciable que les écorces de racines quel que soit le solvant utilisé. Toutefois ces résultats ne permettent pas à ce stade de confirmer que les écorces de tronc peuvent remplacer les écorces de racine. Une étude ultérieure dans le but d'isoler et identifier des molécules bioactives à activités pharmacologiques devrait permettre de mieux cerner la nature des principes actifs pour une utilisation rationnelle des extraits de la plante.

Références bibliographiques

1. Angenot L, Wauters JN. *Strychnos innocua* (Loganiaceae). *Plantes Médicinales et Phytothérapie*. 1974;3:14-7.
2. Ibrahim H, Uttu AJ, Sallau MS, Iyun ORA. Gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS) analysis of ethyl acetate root bark extract of *Strychnos innocua* (Delile). *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*. 2021;10(1):1-8.
3. Ali-Rachedi F, Meraghni S, Touaibia N. *Scabiosa Atropurpurea* sub. *Maritima* L. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*. 2018;87:9.
4. Tabuti JRS, Lye KA, Dhillion SS. Traditional herbal drugs of Bulamogi, Uganda: plants, use and administration. *Journal of Ethnopharmacology*. sept 2003;88(1):19-44.
5. Krache I. Evaluation des effets toxiques des extraits méthanoliques de *tamus communis* L. et *teucrium polium* L. sur des rats blancs albino wistar [Mémoire]. [algérie]: UNIVERSITE DE FARHAT ABBAS –SETIF; 2008.
6. *Strychnos innocua* - Useful Tropical Plants [Internet]. 2021 [cité 19 janv 2021]. Disponible sur: <http://tropical.theferns.info/viewtropical.php?id=Strychnos+innocua>
7. Harbone J. *Phytochemical methods*. Chapman and hall ... - Google Scholar [Internet]. 1973 [cité 4 mars 2020]. Disponible sur: https://scholar.google.fr/scholar?hl=fr&as_sdt=0%2C5&q=Harbone+JB.+Phytochemical+methods.+Chapman+and+hall+eds%2C+New+York+1973%3Bp354&btnG=
8. Ali-RACHEDI F, Meraghni S, Touaibia N. *Scabiosa Atropurpurea* sub. *Maritima* L. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*. 2018;87:13-21.
9. Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical biochemistry*. 1996;239(1):70-6.
10. Agbonon A, Gbeassor M. Hepatoprotective effect of *Lonchocarpus sericeus* leaves in CCl₄-induced liver damage. *Journal of herbs, spices & medicinal plants*. 2009;15(2):216-26.
11. Souhila M, Mustapha K. Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). . B. 2013;6.
12. Bruneton J. *Pharmacognosie; phytochimie, plantes médicinales*. 4ème édition Lavoisier. Paris; 1999.
13. Betina-Bencharif S. Isolement et caractérisation de saponosides extraits de deux plantes médicinales: *Cyclamen africanum*, *Zygophyllum cornutum* et évaluation de leur activité anti-inflammatoire [PhD Thesis]. Université de Bourgogne; Université Mentouri-Constantine; 2014.
14. Falleh H, Ksouri R, Chaieb K, Karray-Bouraoui N, Trabelsi N, Boulaaba M, Abdelly C. Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*. 2008;331(5):372-9.
15. Marco GJ. A rapid method for evaluation of antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 1968;45(9):594-8.
16. Gehin A, Guyon C, Nicod L. Glyphosate-induced antioxidant imbalance in HaCaT: The protective effect of Vitamins C and E. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 1 juill 2006;22(1):27-34.
17. Al-Farsi M, Alasalvar C, Morris A, Baron M, Shahidi F. Comparison of Antioxidant Activity, Anthocyanins, Carotenoids, and Phenolics of Three Native Fresh and Sun-Dried Date (*Phoenix dactylifera* L.) Varieties Grown in Oman. *J Agric Food Chem*. 1 sept 2005;53(19):7592-9.

Composition chimique et activité antiproliférative sur des cellules cancéreuses de la prostate et du col de l'utérus de l'huile essentielle de *Lantana camara*

Bayala Bagora^{a,B,C,D*}, Coulibaly Liz Laetitia^{a,B}, Zongo Pegwendé Fabienne^{a,B}, Ouedraogo Estelle^{a,B}, Djigma Florencia Wendkuuni^{a,B}, Yonli Albert^b, Baron Silvère^c, Figueredo Gilles^c, Lobaccaro A. Jean-Marc^c, Simpore Jacques^{a,B}

^a Laboratoire de Biologie Moléculaire et de Génétique (LABIOGENE), Département de Biochimie-Microbiologie, Université Joseph KI-ZERBO, 03 BP 7021, Ouagadougou 03, Burkina Faso

^b Centre de Recherche Biomoléculaire Pietro Annigoni (CERBA), 01 BP 216 Ouagadougou 01, Burkina Faso

^c Laboratoire Génétique, Reproduction & Développement, UMR CNRS 6293, INSERM U1103, Université Clermont Auvergne, 28, Place Henri Dunant, BP38, F63001, Clermont-Ferrand, France

^d Ecole Normale Supérieure, BP 376 Koudougou, Burkina Faso

^e LEXVA Analytique, Biopole Clermont-Limagne, Saint-Beauzire, France

Résumé

Objectif : Déterminer la composition chimique et les activités antioxydantes et antitumorales sur des cellules cancéreuses de la prostate et du col de l'utérus en culture de l'huile essentielle (HE) de *Lantana camara*, une plante utilisée en médecine traditionnelle au Burkina Faso. **Méthodes :** La composition chimique de l'HE de *Lantana camara* a été déterminée par analyse GC/FID et GC/MS et l'activité antiproliférative a été évaluée à travers le test MTT.

Résultats: Au total 48 composés ont été identifiés dans l'huile essentielle de *Lantana camara* dont le Sabinène, le Béta-Caryophyllène, l'Eucalyptol et l'Alpha-Humulène révélés majoritaires. L'huile essentielle de *Lantana camara* inhibe aussi bien la prolifération des cellules HeLa du cancer du col de l'utérus que celles LNCaP du cancer de la prostate. **Conclusion :** Ces résultats au-delà de constituer une preuve scientifique de l'utilisation de *Lantana camara* en médecine traditionnelle, nécessitent un approfondissement à travers la détermination du mécanisme d'action moléculaire principalement sur les lignés cancéreuses LNCaP *in vitro*.

Mots clés : *Lantana camara*, huile essentielle, composition chimique, cancer

1. Introduction

Le cancer est un problème majeur de santé publique et la deuxième cause de décès dans le monde (Puyol et al., 2021). Le fardeau du cancer continue de croître et devrait doubler d'ici 2040 (Puyol et al., 2021). Le cancer du col de l'utérus est le quatrième cancer le plus fréquent et la quatrième cause de décès par cancer chez les femmes (Bray et al., 2018). Et dans le monde, le cancer de la prostate représente la deuxième tumeur solide la plus fréquente chez les hommes (Gandaglia et al., 2021). Il est donc plus que nécessaire d'explorer toutes les options positives pour une meilleure prise en charge et à moindre coût. La recherche sur le cancer est un moteur essentiel des avancées dans les stratégies de prévention et thérapeutiques qui bénéficieront aux patients atteints de cancer de demain (Puyol et al., 2021). Les plantes regorgeant d'une diversité de molécules naturelles sont une bonne alternative. En effet, plusieurs études ont déjà montré les diverses propriétés anticancéreuses des huiles essentielles, des substances volatiles extraites des plantes aromatiques (Khalil et al., 2021; Niksic et al., 2021; Ruttanapattanakul et al., 2021; Yeh and Lin, 2021). *Lantana camara* est une plante aromatique utilisée en médecine traditionnelle au Burkina Faso et dont l'huile essentielle possède des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes (Udappusamy et al., 2022) et cytotoxique (Barros et al., 2016). *Lantana camara* Linn. est utilisée traditionnellement pour ses nombreuses propriétés médicinales notamment celles antipaludique, antibactérienne, anticancéreuse et anti-inflammatoire (Dougnon and Ito, 2020).

Le but de ce travail est de déterminer la composition chimique, le chémotype et l'activité antiproliférative de l'huile essentielle de *Lantana camara*, une plante médicinale utilisée au Burkina Faso dans le traitement de maladies inflammatoires.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal et extraction et de l'huile essentielle (HE)

Des feuilles de *Lantana camara* ont été récoltées le 12 septembre à Ouagadougou, Burkina Faso (figure 1). Localisation GPS : 12°25'29,5''N et 1°29'14,3''W. Des fractions de matériel végétal frais (1 Kg) ont été soumises à une hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type alambic/Clevenger pendant 3 h comme décrit précédemment (Bayala et al., 2018). Les HE ont été conservées dans des contenants

hermétiques au réfrigérateur à 4 °C jusqu'aux analyses GC-FID et GC/MS et aux tests biologiques. Les HE ont été dilués dans de l'hexane (1/30, v/v) pour l'analyse GC/FID.



Figure 1. photo de *Lantana camara*, Ouagadougou, Burkina Faso (BAYALA Bagora, 2019)

2.2. Composition chimique

2.2.1. Analyse par chromatographie en phase gazeuse par détecteur à ionisation de flamme (GC/FID)

La composition des HE a été effectuée comme mentionné précédemment (Bayala et al., 2014b). En bref, la chromatographie en phase gazeuse des HE dilués dans l'hexane a été réalisée sur un chromatographe en phase gazeuse Agilent modèle 6890 (Agilent, Palo Alto, Californie), équipé d'une colonne de 30 m x 0,25 mm, d'une épaisseur de film de 0,25 μm sous un flux d'hydrogène, à partir de 50 °C (5 min) à 300 °C avec une température croissante de 5 °C/min. L'échantillon a été injecté en mode fractionné, les températures de l'injecteur et du détecteur étant respectivement de 280 et 300 °C (Bayala et al., 2018).

2.2.2. Analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse (GC/MS)

Les analyses par spectrométrie de masse ont également été réalisées telles que décrites précédemment (Bayala et al., 2014b). En bref, un chromatographe en phase gazeuse Agilent modèle 7890 couplé à un Agilent MS modèle 5975 a été utilisé. L'hélium a été utilisé avec un débit moyen de 1,0 mL/min. Le programme de température du four allait de 50 °C (3,2 min) à 300 °C à 8 °C/min, 5 min après l'exécution à 300 °C. L'échantillon a été injecté en mode fractionné, la température de l'injecteur et du détecteur étant respectivement de 250 °C et 280 °C (Bayala et al., 2018). Le MS fonctionnant en mode impact électronique à 70eV; multiplicateur d'électrons, 1500 V; température de la source d'ions, 230 °C; les données des spectres de masse ont été acquises en mode balayage dans la plage m/z 33-450 (Bayala et al., 2018).

2.2.3. Identification des composants

Les principaux composés présents dans l'huile essentielle de *Lantana camara* ont été identifiés comme décrit précédemment (Bayala et al., 2014b). L'utilisation de composés standard pour identifier les composants de l'huile essentielle aurait été la méthodologie de pointe. Cependant, en raison de contraintes techniques et de ressources, nous avons effectué des indices de rétention et des comparaisons avec la bibliothèque NIST (Stein et al., 2002) ou la littérature (Adams, 2007). Les pourcentages relatifs des composés ont été calculés sur la base des zones de pic GC sans utiliser de facteurs de correction (Bayala et al., 2018).

2.3. Culture de cellules

Une lignée cellulaire humaine de cancer de la prostate et une deuxième du cancer du col de l'utérus ont été utilisées.

La lignée cellulaire LNCaP est une lignée cellulaire sensible aux androgènes avec un faible potentiel métastatique dérivée d'une métastase ganglionnaire (Horoszewicz et al., 1983).

La lignée cellulaires HeLa de cancer du col de l'utérus provient d'un prélèvement de métastases réalisées sur une patiente afro-américaine atteinte d'un cancer du col de l'utérus et décédée en 1951, Henrietta Lacks (C, 1974).

Toutes ces cellules sont disponibles au LABIOGENE via le Laboratoire Génétique, Reproduction & Développement (GReD) de l'Université Clermont-Auvergne, France. Ils ont été cultivés et maintenus à 37°C dans une enceinte humidifiée à 5% de CO₂ dans des flacons de 75 cm² de culture tissulaire, en milieu additionné de 10% de sérum de veau foetal (FCS, Biowest, Nuaille, France), 1% de pénicilline et 1% streptomycine (Invitrogen, Oslo, Norvège). Les cellules ont été maintenues dans du milieu RPMI-1640 (Invitrogen).

2.4. Activité antiproliférative

Le dosage au bromure de 3[4,5-diméthylthiazol-2-yl]-diphényltétrazolium (Sigma-Aldrich) (MTT) a été utilisé pour mesurer la survie des cellules. En bref, 50 000 cellules/mL ont étéensemencées pendant 24 h dans des plaques à 96 puits. Après 24 heures, l'huile essentielle de *Lantana camara* a été ajoutée. Et après 72 h d'incubation, le nombre de cellules vivantes a été mesuré comme décrit (Bayala et al., 2014b, 2018) à l'aide d'un lecteur de microplaques de type Bio-Rad 11885 à 490 nm. Les expériences ont été réalisées en sextuplet trois fois de suite sur chaque lignée cellulaire.

2.5. analyses statistiques

Les expériences *in vitro* ont été réalisées en sextuplet, chaque point de données représentant la moyenne d'au moins trois expériences indépendantes. Toutes les données sont présentées sous forme de moyenne ± écart type. Les données ont été analysées par analyse de variance suivie du test de comparaison multiple Turquie. Les analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel XLSTAT 7.1. P <0,05 a été utilisé comme critère de significativité statistique.

3. Résultats et Discussion

3.1. Composition chimique

Les huiles essentielles, mélange de molécules complexes (Bayala et al., 2014a) sont des molécules naturelles, complexes, volatiles et odorantes synthétisées par les cellules sécrétoires des plantes aromatiques (Duquenois and Anton, 1968).

Tableau 1. Composition chimique de l'huile essentielle de *Lantana camara*

Composé	Temps de rétention (min)	Pourcentage (%)
Alpha-Thujène	11,64	0,57
Alpha-Pinène	11,94	3,36
Camphène	12,56	1,40
Sabinène	13,45	20,38
Béta-Pinène	13,60	2,78
1-Octène-3-ol	13,65	0,24
Myrcène	13,95	1,92
Alpha-Phellandrène	14,59	0,29
Delta-3-Carène	14,68	2,48
Alpha-Terpinène	14,96	0,22
Para-Cymène	15,25	0,75

Limonène	15,42	2,14
Eucalyptol	15,56	10,56
(E)-Béta-Ocimène	15,95	0,99
Gamma-Terpinène	16,39	0,79
Cis-Oxyde de Linalol	16,85	0,32
Terpinolène	17,31	0,46
Linalol	17,78	0,18
3-Méthyl-Butanoate de Pentyle	17,82	0,12
Allo-Ocimène	18,66	0,09
Iso-Butanoate d'hexyle	19,23	0,03
Camphre	19,42	0,83
Delta-Terpinéol	20,13	0,06
Bornéol	20,23	0,25
Terpinène-4-ol	20,45	0,76
Alpha-Terpinéol	20,89	0,32
Delta-Elémène*	24,84	0,85
Delta-Elémène	24,91	0,10
Alpha-Copaène	26,08	0,38
7-Epi-Sesquithujène	26,20	0,05
Delta-Elémène	26,41	1,02
Béta-Caryophyllène	27,37	17,88
Gamma-Elémène	27,45	0,47
Béta-Copaène	27,55	0,47
(Z)-Béta-Farnésène	27,92	0,03
Alpha-Humulène	28,27	6,68
Gamma-Muuroène	28,66	0,17
Germacrène-D	28,88	1,30
Bicyclogermacrène	29,25	4,46
Delta-Cadinène	29,72	0,61
(E)-Nérolidol	30,68	2,21
Germacrène-D	30,83	0,19
Spathuléol	31,28	0,91
Oxyde de Caryophyllène	31,42	1,28
Inconnu MW 220	32,05	0,98
Inconnu MW 220	32,61	2,58
Inconnu MW 220	33,07	0,93
Inconnu MW 226	33,49	0,73
Total		96,57
Monoterpènes hydrocarbonés		38,63
Sesquiterpènes hydrocarbonés		34,66
Monoterpènes alcools		12,13
Non déterminés (inconnus)		5,23
Autres		5,94

*, Isomère non identifié; MW, poids moléculaire

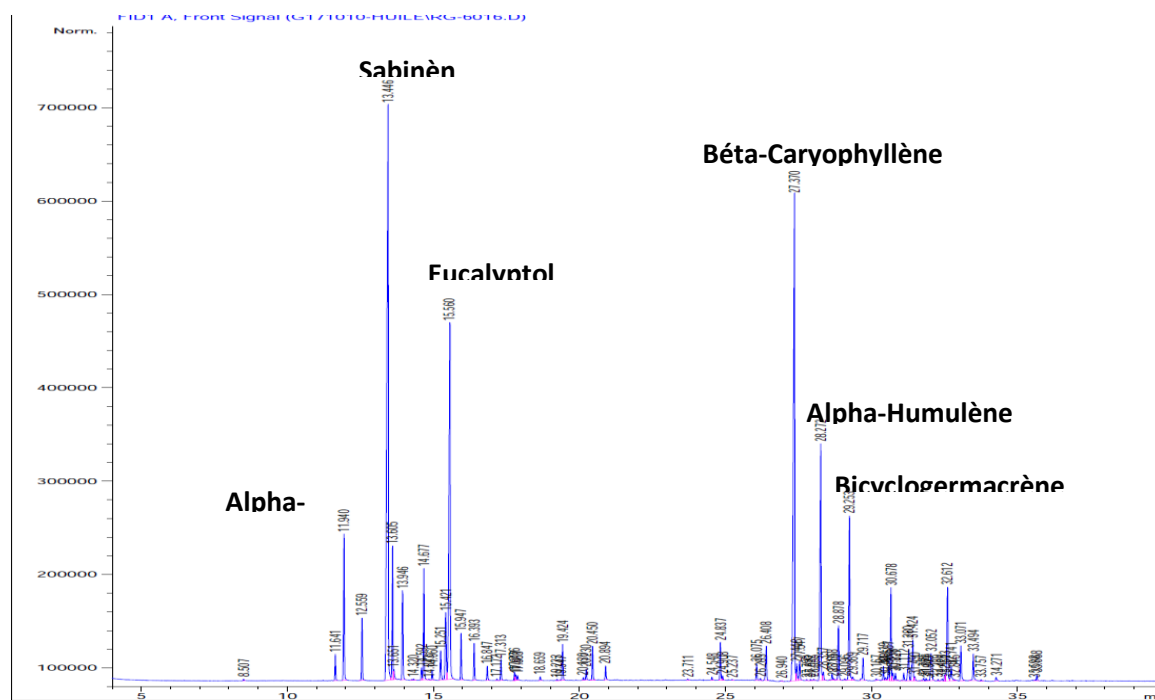


Figure 2. Chromatogramme de l'huile essentielle de *Lantana camara* et ses composés majoritaires

Ces résultats de l'analyse chimique de l'huile essentielle de feuilles de *Lantana camara* (tableau 1 et figure 1) ont montré que cette plante contient une diversité de composés. En effet, quarante-huit (48) composés ont été identifiés dans l'huile essentielle de *Lantana camara* à un taux total de 96,57% dont quatre (4) composés non connus dans la littérature. Les principaux composés de l'huile essentielle de *Lantana camara* sont: le Sabinène (20,38%), le β -Caryophyllène (17,88%), l'Eucalyptol (10,56%), le α -Humulène (6,68%), le Bicyclogermacrène (4,46%) et le α -piène (3,36%). On note une différence quantitative et qualitative de l'huile essentielle des feuilles de *Lantana camara* du Burkina Faso comparativement à celle d'une étude réalisée au Brésil dont les composés majoritaires étaient: le (E)-caryophyllène (23,75%), le bicyclogermacrène (15,80%), le germacrène D (11,73%), le terpinolène (6,1%) et le sabinène (5,92%) (Barros et al., 2016). Cela pourrait s'expliquer par la variation géographique et le climat qui peuvent avoir un effet sur la composition chimique. Cette différence pourrait également s'expliquer par plusieurs facteurs, notamment des facteurs génétiques, l'âge, la saison de récolte et/ou l'environnement de la plante (Gratani, 2014; Letort et al., 2008). Par ailleurs, l'huile essentielle de cette plante médicinale du Burkina est essentiellement composée de Monoterpènes hydrocarbonés (38,63%), de Sesquiterpènes hydrocarbonés (34,66%) et de Monoterpènes alcools (12,13%). Par ailleurs, des analyses de la composition chimique réalisée au Bénin sur l'huile essentielle de *Lantana Camara* ont révélé qu'elle était dominée par les hydrocarbures monoterpéniques (60,58%) et les monoterpènes oxygénés (33,39%), parmi lesquels le sabinène (38,81%) et le 1,8-cinéole (28,90%) étaient les plus abondants (Dougnon and Ito, 2020)

3.2. Activité anti-Proliférative

Les résultats de l'effet de l'huile essentielle de *Lantana camara* sur les lignées cellulaires humaines de cancer de la prostate LNCaP et les lignées cellulaires humaines de cancer du col de l'utérus HeLa sont présentés dans le tableau 2.

Tableau 2. IC₅₀ (μ g/mL) de l'huile essentielle de *Lantana camara* sur les lignées LNCaP du cancer de la prostate et HeLa du cancer du col de l'utérus.

	Huile essentielle de <i>Lantana camara</i>	
	Cellules LNCaP	Cellules HeLa
IC ₅₀ (μ g/mL)	130,72 \pm 8,31***	229,27 \pm 11,25*

Les valeurs sont exprimées en valeurs moyennes \pm écart type; $n = 3$ expériences indépendantes en sextuplets; *, $p < 0,05$; ***, $p < 0,05$; valeurs significativement différentes comparativement

Par ailleurs, la figure 3 montre l'activité antiproliférative de l'huile essentielle de *Lantana camara* en fonction de la concentration.

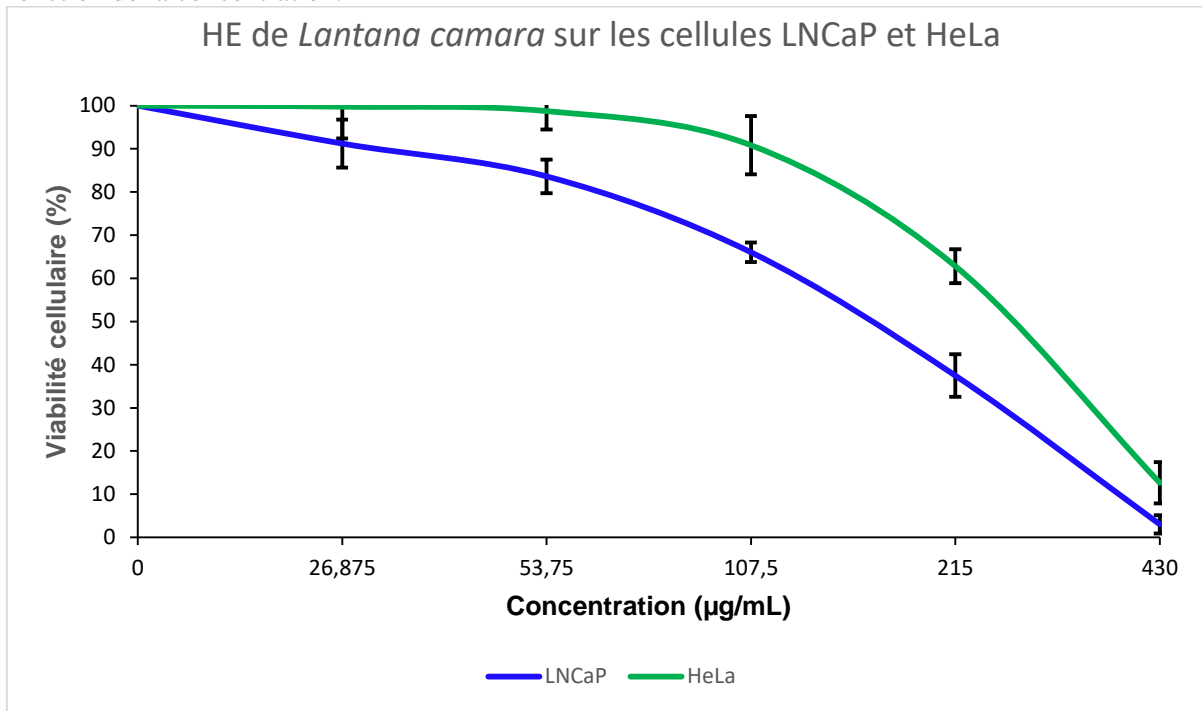


Figure 3. Activité antiproliférative dose-dépendante de l'huile essentielle de *Lantana camara* sur des cellules LNCaP du cancer de la prostate et HeLa du cancer du col de l'utérus traitées pendant 72 heures. Les expériences ont été réalisées pendant trois fois de suite en sextuplet.

Les IC50 de l'huile essentielle de *Lantana camara* sur les lignées LNCaP et HeLa sont respectivement de $130,72 \pm 8,31 \mu\text{g/mL}$ et de $229,27 \pm 11,25 \mu\text{g/mL}$ après 72 heures d'induction. L'effet de l'huile essentielle de *Lantana camara* du Burkina Faso est dose-dépendant aussi bien sur les lignées LNCaP du cancer de la prostate que sur les lignées HeLa du cancer du col de l'utérus. Aussi, les cellules LNCaP sont plus sensibles à cette huile essentielle que les cellules HeLa. D'autres études ont par ailleurs mis en évidence l'effet anticancéreux des extraits de *Lantana camara*. En effet, l'extrait de *Lantana camara* a induit la mort cellulaire des lignées cellulaires MCF-7 du cancer du sein (Han et al., 2015). Il a été constaté que l'apoptose induite par le traitement avec l'extrait de *Lantana camara* était régulée par la famille Bcl-2. Bcl-2 et Bax ont été augmentés et Bcl-2 a été diminué par l'extrait de *Lantana camara*. L'extrait de *Lantana camara* a modulé le clivage de la caspase-8 et de la caspase-9, ainsi que de la poly (ADP-ribose) polymérase, PARP (Han et al., 2015).

Les triterpénoïdes pentacycliques séparés des feuilles de *Lantana camara* ont induit arrêt du cycle des lignées cellulaires MCF-7 du cancer de sein *in vitro* (Shamsee et al., 2019)

La lectine de feuilles de *Lantana camara* a montré un effet inhibiteur dose et temps-dépendants sur les cellules HT-29 du cancer du côlon avec une IC50 de $3,75 \mu\text{g/ml}$ à 48 heures (Hiremath et al., 2020).

4. Conclusion

Lantana camara est couramment utilisé en médecine traditionnelle seule ou en association avec d'autres plantes médicinales au Burkina Faso pour la prise en charge de diverses maladies, principalement les maladies microbiennes et inflammatoires. Ici, nous avons déterminé la composition chimique et montré que l'huile essentielle de cette plante a une activité anti-proliférative sur les lignées cellulaires LNCaP du cancer de la prostate et HeLa du cancer du col de l'utérus. Au regard de ces résultats une étude approfondie demeure nécessaire en vue de la détermination du mécanisme d'action de cette huile essentielle surtout sur les cellules LNCaP du cancer de la prostate où l'activité est meilleure.

5. Références

- Adams, R.P., 2007. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/mass Spectrometry, Allured Publishing, Carol Stream, IL, USA, 804. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1205372>
- Barros, L.M., Duarte, A.E., Morais-Braga, M.F.B., Waczuk, E.P., Vega, C., Leite, N.F., de Menezes, I.R.A., Coutinho, H.D.M., Rocha, J.B.T., Kamdem, J.P., 2016. Chemical Characterization and Trypanocidal, Leishmanicidal and Cytotoxicity Potential of *Lantana camara* L. (Verbenaceae) Essential Oil. *Mol. Basel Switz.* 21. <https://doi.org/10.3390/molecules21020209>
- Bayala, B., Bassole, I.H., Scifo, R., Gnoula, C., Morel, L., Lobaccaro, J.-M.A., Simpore, J., 2014a. Anticancer activity of essential oils and their chemical components - a review. *Am. J. Cancer Res.* 4, 591–607.
- Bayala, B., Bassole, I.H.N., Gnoula, C., Nebie, R., Yonli, A., Morel, L., Figueredo, G., Nikiema, J.-B., Lobaccaro, J.-M.A., Simpore, J., 2014b. Chemical composition, antioxidant, anti-inflammatory and anti-proliferative activities of essential oils of plants from Burkina Faso. *PloS One* 9, e92122. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092122>
- Bayala, B., Bassole, I.H.N., Maqdasy, S., Baron, S., Simpore, J., Lobaccaro, J.-M.A., 2018. *Cymbopogon citratus* and *Cymbopogon giganteus* essential oils have cytotoxic effects on tumor cell cultures. Identification of citral as a new putative anti-proliferative molecule. *Biochimie* 153, 162–170. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2018.02.013>
- Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R.L., Torre, L.A., Jemal, A., 2018. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA. Cancer J. Clin.* 68, 394–424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
- C, B.J., 1974. HeLa (for Henrietta Lacks). *Science* 184, 1268. <https://doi.org/10.1126/science.184.4143.1268>
- Dougnon, G., Ito, M., 2020. Sedative effects of the essential oil from the leaves of *Lantana camara* occurring in the Republic of Benin via inhalation in mice. *J. Nat. Med.* 74, 159–169. <https://doi.org/10.1007/s11418-019-01358-9>
- Duquenois, P., Anton, R., 1968. [Search for derivatives of anthracene in 2 African Cassia: *Cassia nigricans* Vahl et *Cassia podocarpa* Guill. et Perr]. *Ann. Pharm. Fr.* 26, 607–614.
- Gandaglia, G., Leni, R., Bray, F., Fleshner, N., Freedland, S.J., Kibel, A., Stattin, P., Van Poppel, H., La Vecchia, C., 2021. Epidemiology and Prevention of Prostate Cancer. *Eur. Urol. Oncol.* 4, 877–892. <https://doi.org/10.1016/j.euo.2021.09.006>
- Gratani, L., 2014. Plant Phenotypic Plasticity in Response to Environmental Factors [WWW Document]. *Adv. Bot.* <https://doi.org/10.1155/2014/208747>
- Han, E.B., Chang, B.Y., Jung, Y.S., Kim, S.Y., 2015. *Lantana camara* Induces Apoptosis by Bcl-2 Family and Caspases Activation. *Pathol. Oncol. Res. POR* 21, 325–331. <https://doi.org/10.1007/s12253-014-9824-4>
- Hiremath, K.Y., Jagadeesh, N., Belur, S., Kulkarni, S.S., Inamdar, S.R., 2020. A lectin with anti-microbial and anti proliferative activities from *Lantana camara*, a medicinal plant. *Protein Expr. Purif.* 170, 105574. <https://doi.org/10.1016/j.pep.2020.105574>
- Horszewicz, J.S., Leong, S.S., Kawinski, E., Karr, J.P., Rosenthal, H., Chu, T.M., Mirand, E.A., Murphy, G.P., 1983. LNCaP model of human prostatic carcinoma. *Cancer Res.* 43, 1809–1818.
- Khalil, H.E., Ibrahim, H.-I.M., Darrag, H.M., Matsunami, K., 2021. Insight into Analysis of Essential Oil from *Anisoscadium lanatum* Boiss.-Chemical Composition, Molecular Docking, and Mitigation of Hepg2 Cancer Cells through Apoptotic Markers. *Plants Basel Switz.* 11. <https://doi.org/10.3390/plants11010066>
- Letort, V., Mahe, P., Cournède, P.-H., de Reffye, P., Courtois, B., 2008. Quantitative Genetics and Functional–Structural Plant Growth Models: Simulation of Quantitative Trait Loci Detection for Model Parameters and Application to Potential Yield Optimization. *Ann. Bot.* 101, 1243–1254. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm197>
- Niksic, H., Becic, F., Koric, E., Gusic, I., Omeragic, E., Muratovic, S., Miladinovic, B., Duric, K., 2021. Cytotoxicity screening of *Thymus vulgaris* L. essential oil in brine shrimp nauplii and cancer cell lines. *Sci. Rep.* 11, 13178. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92679-x>
- Puyol, M., Seoane, J., Aguilar, E., Voza, L.B., Orbe, I., Crawford, K.H., Fernández, A., Bray, F., Johnson, S.E., Gopal, S., 2021. WORLD CANCER RESEARCH DAY: A Call to Action for a Coordinated International Research Effort to Prevent, Diagnose, and Treat Cancer. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* 27, 963–966. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-20-2978>
- Ruttanapattanakul, J., Wikan, N., Chinda, K., Jearanaikulvanich, T., Krisanuruks, N., Muangcha, M., Okonogi, S., Potikanond, S., Nimlamoool, W., 2021. Essential Oil from *Zingiber ottensii* Induces Human Cervical Cancer Cell Apoptosis and Inhibits MAPK and PI3K/AKT Signaling Cascades. *Plants Basel Switz.* 10. <https://doi.org/10.3390/plants10071419>
- Shamsee, Z.R., Al-Saffar, A.Z., Al-Shanon, A.F., Al-Obaidi, J.R., 2019. Cytotoxic and cell cycle arrest induction of pentacyclic triterpenoids separated from *Lantana camara* leaves against MCF-7 cell line in vitro. *Mol. Biol. Rep.* 46, 381–390. <https://doi.org/10.1007/s11033-018-4482-3>
- Stein, S., Mirokhin, D., Tchekhovskoi, D., Mallard, G., 2002. The NIST Mass Spectral Search Program for the NIST/EPA/NIH Mass Spectra Library, Standard Reference Data Program of the National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA. *Addict. Abingdon Engl.*
- Udappusamy, V., Mohan, H., Thinakaran, R., 2022. *Lantana camara* L. essential oil mediated nano-emulsion formulation for biocontrol application: anti-mosquitocidal, anti-microbial and antioxidant assay. *Arch. Microbiol.* 204, 388. <https://doi.org/10.1007/s00203-022-02975-x>
- Yeh, T.-H., Lin, J.-Y., 2021. Active Ingredients from *Euodia ruticarpa* Steam Distilled Essential Oil Inhibit PC-3 Prostate Cancer Cell Growth via Direct Action and Indirect Immune Cells Conditioned Media In Vitro. *Curr. Issues Mol. Biol.* 43, 996–1018. <https://doi.org/10.3390/cimb43020071>

Impacts du changement climatique et de la pression démographique sur la disponibilité environnementale des plantes médicinales galactogènes et de fortification de l'enfant au Niger.

Hama Garba Rahila¹, Idrissa Moussa¹, Hassimi Sadou².

¹Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles et Synthèse Organique (LASNASO), Faculté des Sciences et Techniques, Université Abdou Moumouni, BP 10662 Niamey-Niger.

²Laboratoire de Production des agros-ressources (LNVA), Faculté des Sciences et Techniques, Université Abdou Moumouni, BP 10662 Niamey-Niger.

Résumé

Depuis des nombreuses décennies, la dégradation de la biodiversité planétaire suscite un intérêt croissant. Ainsi, au Sahel, le couvert végétal se dégrade d'année en année, avec une vitesse inquiétante, sous l'effet du changement climatique (sécheresses) et de la pression démographique constituant ainsi des facteurs de risque d'aggravation de la désertification. Cette dégradation continue du potentiel forestier et de la diversité végétale impacte défavorablement les populations rurales qui tirent l'essentiel de leur subsistance des ressources naturelles de leur environnement essentiellement dans la préservation de la santé.

L'utilisation des plantes à des fins thérapeutiques est une pratique ancestrale qui remonte aux temps les plus anciens de l'histoire de l'humanité. Aujourd'hui encore l'exploitation des plantes à des fins médicinales joue un grand rôle pour les communautés malgré la médecine moderne.

Au Niger, en milieu rural les mères allaitantes ont toujours fait recours à des plantes médicinales pour se soigner et soigner leurs enfants. Les problèmes de santé infantile sont élevés, du coup pour fortifier la santé des nourrissons, les mères allaitantes font recours à un certains nombres de préparations de remède traditionnel communément appelé *Djitti* en langue Zarma qui se confectionne en cocktail d'un certains nombres de parties de quelques plantes médicinales reconnues comme efficace pour contrer les affections infantiles les plus courantes telles que : diarrhée, vomissements, fièvres et infections respiratoires aigües.

Mots clés : Niger, Djitti, fortification, galactogène.

Abstract

For many decades, there has been growing interest in the degradation of global biodiversity. Thus, in the Sahel, the vegetation cover is deteriorating from year to year, with a worrying rate, under the effect of climate change (droughts) and demographic pressure thus constituting risk factors for worsening desertification. This continuous degradation of forest potential and plant diversity has an adverse impact on rural populations, who derive most of their livelihoods from the natural resources of their environment, mainly in the preservation of health.

The use of plants for therapeutic purposes is an ancestral practice that dates back to the earliest times in human history. Even today the exploitation of plants for medicinal purposes plays a great role for communities despite modern medicine.

In Niger, in rural areas, breastfeeding mothers have always used medicinal plants to care for themselves and their children. Childhood health problems are high, so to strengthen the health of infants, nursing mothers' resort to a certain number of traditional remedy formulas commonly called *Djitti* in the Zarma language which is made in cocktail of a certain number of parts of some medicinal plants recognized as effective to counter the most common childhood conditions such as: diarrhea, vomiting, fevers and acute respiratory infections.

Keywords: Niger, Djitti, fortification, galactogenic.

Introduction

Depuis le sommet de Rio de Janeiro en 1992, la dégradation de la biodiversité planétaire suscite un intérêt croissant. En effet, diverses études ont montré que la biodiversité se dégrade à travers le monde (Tilman, 2001 ; Thomas *et al.*, 2004 ; Faith, 2005). On estime à près de 0,1%, le pourcentage des espèces qui disparaissent par décennie (Pimm et Raven, 2000). Les principales causes de perte de biodiversité sont dues aux activités humaines telles que la destruction de l'habitat, la pollution, le changement climatique (Sala *et al.*, 2000), l'invasion d'espèces exotiques, la pression démographique humaine, les pratiques agricoles, le changement de mode de vie (Opdam et Wascher, 2004) et à l'action combinée des facteurs naturels et humains (Devineau, 2001, Butare, 2003). L'Organisation mondiale de la Santé estime à près de 250 000 le nombre de décès annuels supplémentaires jusqu'en 2030 dus à la malnutrition, au paludisme, à la diarrhée et au stress thermique, attribuables au changement climatique (WHO., 2014a).

Au Sahel, le couvert végétal se dégrade d'année en année, avec une vitesse inquiétante, sous l'effet du changement climatique et des sécheresses récurrentes qu'il induit (Giannini *et al.*, 2003) et, la pression démographique et migratoire (Ouédraogo, 2008). L'augmentation de la population se traduit par une augmentation des surfaces emblavées au détriment des jachères et une surexploitation des ressources végétales entraînant une accélération de l'érosion anthropique. Il s'y ajoute une commercialisation des plantes médicinales qui a entraîné l'apparition de groupe de personnes sans aucun souci de protection des espèces médicinales traditionnelles qu'ils exploitent abusivement en vue d'un meilleur gain. L'exploitation à des fins médicinales conduit très souvent à la mort des plantes suite à des prélèvements excessifs et continus (Hassane, 2008). Le changement climatique, la commercialisation et la coupe abusives et la pression démographique et migratoire constituent ainsi un facteur majeur de risque d'aggravation de la désertification et par conséquent de raréfaction des ressources végétales donc des plantes médicinales (Ouédraogo, 2008 ; Thiombiano *et al.*, 2006). Cette dégradation du potentiel forestier et de la diversité végétale impacte défavorablement les populations rurales qui tirent l'essentiel de leur subsistance des ressources naturelles de leur environnement (Moussa *et al.*, 2013). Ces populations utilisent les ressources végétales dans des domaines aussi variés que l'alimentation (Taïta, 2000) ; la cosmétique (Séréme *et al.*, 2001), l'artisanat (Ganaba *et al.*, 2005), la construction d'habitat, l'énergie (Yaméogo *et al.*, 2005) et la préservation de la santé (Zerbo *et al.*, 2007). En effet, les plantes médicinales constituent, pour ces populations une source inépuisable de drogues pour se soigner (Handa *et al.*, 2006 ; Arbonnier, 2002 ; Nacoulma-Ouédraogo, 1996). Selon l'organisation mondiale de la santé, plus de 80% de la population mondiale utilisent la médecine traditionnelle à base des plantes médicinales dans les soins de santé primaire (WHO, 2002).

Au Niger, l'utilisation des plantes médicinales est l'un des fondements de la médecine traditionnelle (Wezel, 2002 ; Ikhiri, 1984). Cette pratique est très ancienne mais elle reste très courante (Manzo *et al.*, 2017). En effet, malgré l'avènement de la médecine moderne, les populations rurales continuent de se tourner vers les plantes pour se soigner (Zerbo, 2017). L'utilisation des plantes médicinales concerne tous les âges de la vie dont les soins mère-enfant (Wezel, 2002 ; Ikhiri, 1984). Chez le nourrisson et le jeune enfant, les mères utilisent les plantes comme fortifiant pour les pouvoirs prophylactiques ou curatifs supposés ou parce qu'elles sont censées faciliter la croissance et le gain pondéral. Les plantes médicinales sont utilisées pour combattre les grandes causes de morbidité et de mortalité infantiles que sont, la malnutrition, les infections respiratoires aiguës, la diarrhée, le paludisme, la rougeole etc. Enfin, les mères utilisent aussi les plantes médicinales pour leur pouvoir galactogènes afin de stimuler la lactation (Akouedegni *et al.*, 2012). Les plantes galactogènes font parties des plantes médicinales les plus utilisées par les populations des zones rurales où l'allaitement maternel est le principal mode d'alimentation des nourrissons (Bourobou-Bourobou *et al.*, 1996 ; Betti, 2002).

Au Niger, une étude récente a révélé que L'étude a montré que 110 espèces relevant de 89 genres et de 47 familles sont utilisées dans la pharmacopée traditionnelle (Mounkaila *et al.* 2017). Malheureusement, des observations préliminaires, un constat se dégage : dans l'Ouest nigérien, les plantes à usages multiples notamment les ligneux utilisés en pharmacopée traditionnelle sont menacés de disparition non seulement à cause des variabilités climatiques mais aussi à cause des techniques inconsidérées de prélèvements et de surpâturage (Dan Guimbo, 2007, Hassane, 2008, Mounkaila *et al.*, 2017). Toutefois, les impacts de la surexploitation, des pressions démographiques et migratoires et du changement climatique sur la disponibilité environnementale des plantes médicinales utilisées pour les soins du couple mère-enfant restent encore mal évalués. De plus, la façon dont les ménages ruraux se procurent ses plantes (cueillette ou achat) est insuffisamment documentée. En milieu rural, les plantes constituent la source de soins de santé primaire la moins onéreuse et la plus accessible aux populations (Handa *et al.*, 2006 ; Arbonnier 2002 ; Nacoulma-Ouédraogo, 1996). Evaluer leur biodisponibilité environnementale et leur accessibilité aux populations est un objectif majeur de santé publique.

Pour la fortification et les soins de leurs nourrissons, les mères utilisent un mélange donné de plantes médicinales sous forme d'une décoction communément appelée « *Djitti* » en Zarma. La formulation et la préparation du *Djitti* constituent, en général, un savoir-faire « médical » traditionnel de la cellule familiale transmis par les grand-mères et les belles-mères. Malheureusement ce savoir-faire des mères est assez mal documenté. L'utilisation des plantes médicinales pour leur pouvoir galactogènes afin de stimuler la lactation est aussi un savoir-faire transmis à travers les conseils des membres de la famille et de la communauté comme les grand-mères et les belles-mères (Wezel, 2002). Cet aspect non

plus n'a pas été suffisamment documenté. En effet, les études précédentes s'étaient surtout contentées de visiter soit les marchés (Adjanohoun *et al*, 1980 ; Ikhiri *et al*, 1984) soit les guérisseurs traditionnels (Adam *et al*, 1972 ; Adjanohoun *et al*, 1980). Il est donc utile de connaître i) quelles sont les combinaisons de plantes médicinales les plus fréquentes que les mères utilisent dans la formulation du Djitti ? ii) Le Djitti d'une mère est-il formulé d'une manière invariante ou selon la pathologie dont souffre le nourrisson ? iii) La formulation du Djitti évolue-t-elle avec l'âge du nourrisson ?

Beaucoup de mères, en milieu rural, donnent du *Djitti* comme fortifiant à leur nourrisson. La date d'introduction de ce breuvage est très mal documentée. Pourtant, il est expressément recommandé de nourrir les bébés exclusivement au sein maternel (même pas de l'eau) pendant une période maximum de 6 mois (WHO, 2014b). L'allaitement maternel exclusif est souvent mal pratiqué par les familles à cause de normes culturelles très anciennes ou mythes. Ces mythes se transmettent souvent d'une génération à une autre à travers des conseils des membres de la famille et de la communauté. Le *Djitti* fait-il parti de ces mythes ? Quel est l'âge d'introduction du Djitti ? Quelle est la perception des mères qui donnent du *Djitti* à leurs nourrissons de l'allaitement maternel exclusif ? La réponse à ces questions est d'importance quand on sait que les nourrissons qui sont exclusivement nourris au lait maternel jusqu'à l'âge de six mois et qui continuent à être nourris au sein jusqu'à 2 ans et même au-delà, développent moins d'infections et contractent moins de maladies graves que ceux qui ne le sont pas (WHO, 2014b).

Certaines plantes intervenant dans la composition du « *Djitti* » ont été étudiées isolement quant à leur profil phytochimique et, très rarement, leurs effets biologiques (Adjanohoun, 1980 ; Ikhiri, 1984). Cependant les mères n'utilisent jamais une plante médicinale isolée mais un cocktail de plantes dont elles détiennent le savoir-faire de leurs mères ou de leurs belles mères. La combinaison de plantes pour formuler le *Djitti* permet d'étendre le spectre des métabolites secondaires qui constituent les principes actifs des plantes médicinales. L'effet synergique des métabolites secondaires issus de l'association de ces plantes et le profil chimique qui en résulte sont mal connus. Enfin, les mères utilisent aussi les plantes médicinales pour leur pouvoir galactogènes afin de stimuler la lactation (Wezel, 2002 ; Deleke koko *et al.*, 2011). Cet aspect non plus n'a pas été suffisamment documenté.

Les plantes médicinales constituent une source inépuisable de drogues pour la santé des populations rurales. Elles sont utilisées à tous les âges et particulièrement pour la santé maternelle et infantile. Au Niger ces plantes sont formulées sous forme d'un breuvage fortifiant, le *Djitti* chez le nourrisson et le jeune enfant et pour leur pouvoir galactogène chez la mère. L'objectif principal de la présente étude est d'évaluer les effets du changement climatique et de la pression démographique et migratoire sur la disponibilité environnementale des plantes médicinales utilisées dans les soins mère-enfant chez les populations du Niger Ouest.

Matériels et méthodes

1. Matériel

Un entretien semi directif a été utilisé pour questionner les mères allaitantes (questionnaire pré-élaboré).

2. Méthodologie

2.1. Enquête et collecte des données sur le terrain

Il s'agit d'une enquête transversale descriptive utilisant l'entretien semi-directif à partir d'un questionnaire pré-élaboré. Les questions seront posées dans la langue locale et le renseignement portera sur :

- Les caractéristiques socioéconomique et démographique du ménage ;
- Les plantes et les organes des plantes utilisés dans la confection du « *Djitti* » ou comme galactogènes, leur mode de préparation et leur formulation.
- Le rôle et impact du changement climatique et de la pression démographique sur la disponibilité environnementale des plantes entrant de la formulation du « *Djitti* » ou comme galactogènes.
- Le mode d'acquisition des plantes par les mères.

2.2. Zone d'enquête

L'enquête s'est déroulée dans le nord du département de Boboye Dans l'Ouest du Niger, dans la Commune rurale de Harikanassou.

2.3. Type et période d'enquête

Il s'agit d'une enquête transversale en grappes à deux degrés, comportant une collecte des données par interview sur l'utilisation des plantes de fortification chez les enfants de 0 à 5ans et les plantes galactogènes par les mères allaitantes.

2.4. Population cible

La population cible de cette enquête est l'ensemble des mères des enfants âgés de 0 à 59 mois vivant dans la commune.

2.5. Echantillonnage

• Calcul de la taille d'échantillon

La détermination de la taille de l'échantillon sera effectuée de façon indépendante pour chaque Commune (strate). Le logiciel ENA (version juillet 2015) sera utilisé à cette fin. Ce calcul prendra en compte les paramètres suivants : les prévalences attendues (enquêtes SMART 2016), les précisions souhaitées, les effets de grappe, la proportion d'enfants de moins de 5 ans dans la population.

2.6. Technique de sondage

• Base de sondage

Les données de population provenant du Recensement Général de la Population et de l'Habitat (RGPH) et les mises à jour seront utilisées comme base de sondage pour la sélection des échantillons au niveau des strates à partir d'une liste exhaustive des Zones de Dénombrement.

• Sélection des grappes

La sélection des grappes représente le premier degré de sondage. La grappe était l'unité primaire de sondage de cette enquête. Elle sera basée soit sur une zone de dénombrement, un village ou un quartier. La sélection des grappes était réalisée par un tirage aléatoire simple à partir de la base de sondage de chaque strate de manière indépendante afin de garantir la représentativité au niveau strate.

• Sélection des ménages à enquêter

La sélection des ménages constituait le deuxième degré de sondage. Pour procéder à la sélection des ménages, l'enquêteur fera le dénombrement de leurs unités primaires de sondage qui seront soit des zones de dénombrement, des villages, des quartiers ou des segments. Ce qui lui permettra d'établir une liste de tous les ménages de ces unités. Une fois établie, cette liste sera utilisée par la suite comme base de sondage pour sélectionner les ménages à visiter.

• Sélection des mères

Dans chaque ménage sélectionné, toutes les mères des enfants âgés de 0 à 59 mois seront incluses dans l'échantillon, même s'ils étaient de mères différentes (cas des ménages polygames par exemple).

La région Ouest du pays « **Dosso** » plus précisément la commune rurale de « **Harikanassou** » a servi de terrain d'enquêtes.

❖ En considérant les indicateurs utilisés (% de ménages) pour la région de Dosso en 2020 : Source (PROHEBA-2020, SMART-2020).

❖ Les effectifs de la population de ces communes rurales en 2020 (sources : Projections démographiques de 2012 à 2020/INS/Niger).

Communes rurales	Effectifs en 2020
FAKARA	25594
HARIKANASSOU	31618
KOYGOLO	64691

	Accès au service basique de l'eau	Accès au service basique d'assainissement	Service élémentaire de lavage des mains	Pratique de l'allaitement exclusif	Mise au sein immédiate après accouchement	Proportion des de moins de 5 ans
Fakara	41,6	3,78	19,6	20,3	61,4	19,78

Harikanassou	41,6	3,78	19,6	20,3	61,4	19,78
Koygolo	41,6	3,78	19,6	20,3	61,4	19,78

❖ Taille de l'échantillon (trois strates)

	Accès au service basique de l'eau	Accès au service basique d'assainissement	Service élémentaire de lavage des mains	Pratique de l'allaitement exclusif	Mise au sein immédiate après accouchement	Proportion des de moins de 5 ans	Taille retenue
Fakara	588	88	381	392	574	5062	588
Harikanassou	588	88	381	392	574	6253	588
Koygolo	588	88	381	392	574	12794	588
Taille globale							1764

- ❖ En considérant toutes les communes comme domaine d'étude : le choix a été porté sur la commune rurale de **Harikanassou**

Nombre de ménages (Taille globale)	588
Nombre de ménages à enquêter par grappe	20
Nombre de grappe (ZD)	29

Résultats

De par l'échantillonnage effectué, les villages (ZD : Zone de Dénombrement) enquêtés sont :

Tableau I : Liste exhaustive des villages enquêtés (ZD).

Zone de Dénombrement (ZD : Village)
Bogol Mamar peulh
Bogol Hima
Bogol kayna
Bogol mamar
Boukargui
Daniyaré Koira tegui
Daniyaré koira zeno
Harikanassou Zarmakoy koira
Niaberé
Niaberé bella
Niaberé kayna
Zagoré et Zoraney
Gangani Béri et Foulanzam
Gorou Kaina
Bella Koira
Bonda Koira
Gamsa Zougou
Koma Guindiberi
Kouboubi Koura
Kouboubo Sori
Kouringuel Mayaki

Niaberé Djambé
Tombo Peulh
Goroubi Kaina
Tounga Balley
Fandou Djadi
Samede Moussa

I. Caractéristiques socioéconomiques et démographiques des ménages.

1. Caractéristique sociodémographique des chefs des ménages

Paramètre		Fréquence (N=580)	Proportion (%)
Sexe du chef de ménage	Masculin	572	98,6
	Féminin	8	1,4
Age des chefs des ménages	Moyenne	35,388	
	Ecart type	8,748033	
	Minimum	18,0	
	Maximum	61,0	
Ethnie des chefs de ménages	Haoussa	28	4,8
	Peulh	5	0,9
	Zarma	547	94,3
Niveau d'instruction des chefs des ménages	Aucun	186	32,1
	Ecole coranique	132	22,8
	Scolarisés	262	45,2
Activité principale des chefs de ménages	Agriculture	383	66,0
	Commerce	76	13,1
	Artisanat	10	1,7
	Transport	40	6,9
	Autre	71	12,2

- Dans la globalité de l'échantillon, le sexe du chef de ménage est dominé par les hommes avec hommes 98,6 % contre 1,4 % de femmes.
- L'âge du chef de ménage est d'une moyenne de 35 ans avec des extrêmes de 18 ans à 61 ans.
- L'ethnie est prédominée par les Zarmas, qui représentent 94,3 % (ce qui est tout à fait logique car la zone d'enquête est une région d'ethnie Zarma).
- Le niveau d'instruction des chefs de ménage est caractérisé par un taux d'instrus niveau primaire et secondaire de 45,2 % contre 22,8 % d'instrus coranique et 32,1 % qui n'ont aucun niveau d'instruction. Milieu rural, la notion d'instruction reste encore à améliorer par les campagnes et projet de scolarisation des enfants et surtout des jeunes filles.
- L'activité principale du chef de ménage est dans presque 66 % dominé par l'agriculture, activité génératrice de revenu des chefs de ménage en milieu rural, en dehors des petites activités menées en saison sèche tels que : élevage, commerce, jardinage, transport etc.

2. Caractéristique sociodémographique des mères

Paramètre		Fréquence (N=580)	Proportion (%)
Age des mères	Moyenne	25,71	
	Ecart type	6,136	
	Minimum	15	
	Maximum	41	
Ethnie des mères	Haoussa	30	5,2
	Zarma-Peulh	7	1,2
	Peulh	21	3,6
	Sonrhāi	5	0,9
	Touareg	4	0,7
	Zarma	513	88,4

Niveau d'instruction des mères	Aucun	409	70,5
	Ecole coranique	59	10,2
	Scolarisés	112	19,3
Activité principale des mères	Agriculture	489	84,3
	Elevage	46	7,9
	Commerce	5	0,9
	Autre	40	6,9

- L'âge moyen des mères de ménage est de 25 ans avec des extrêmes de 15 ans à 41 ans.
- Tout comme pour les chefs de ménages l'ethnie des mères est prédominée par les Zarma avec 88,4 %.
- Le niveau d'instruction des mères de ménage est caractérisé par un taux d'aucun niveau d'instruction à hauteur de pourcentage de 76,5 % contre 19,3 % scolarisés niveau primaire et secondaire et 10,2 % d'instrus coraniques. Milieu rural, la notion d'instruction reste encore à améliorer par les campagnes et projet de scolarisation des enfants et surtout des jeunes filles.
- L'activité principale génératrice de revenus des mères de ménage est l'agriculture à 84,3 % (arachide, gombo, sésame, niébé, et les cultures de contre saison). Quelques-unes en pratiquent l'élevage à 7,9 % et d'autres le commerce 0,9 %.

3. Répartition des chocs ayant affectés les chefs de ménage

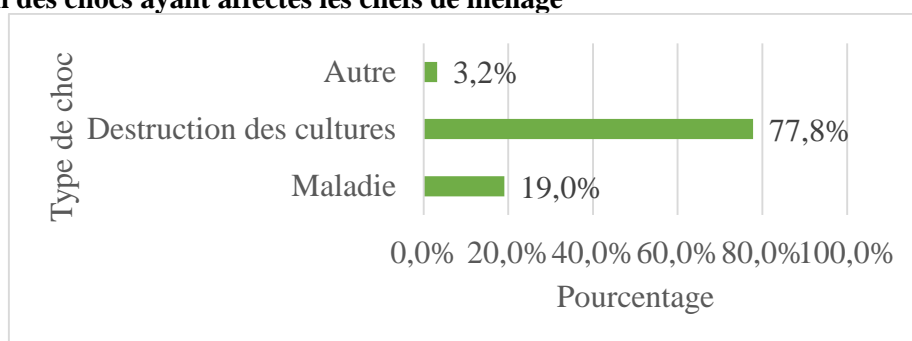


Figure : Chocs ayant affectés les chefs de ménage

Très souvent dans la vie de toujours des chocs adviennent et bouleverse voire perturbe le cours normal des choses, ainsi lors de notre enquête sur le terrain nous avons eu à enquêter des ménages qui ont subi des chocs tels que :

- Destruction de cultures par des inondations en mois de juillet-aout ;
- Maladies ;
- Décès et autres.

4. Croisement entre le niveau d'instruction de la mère et l'usage du Djitti.

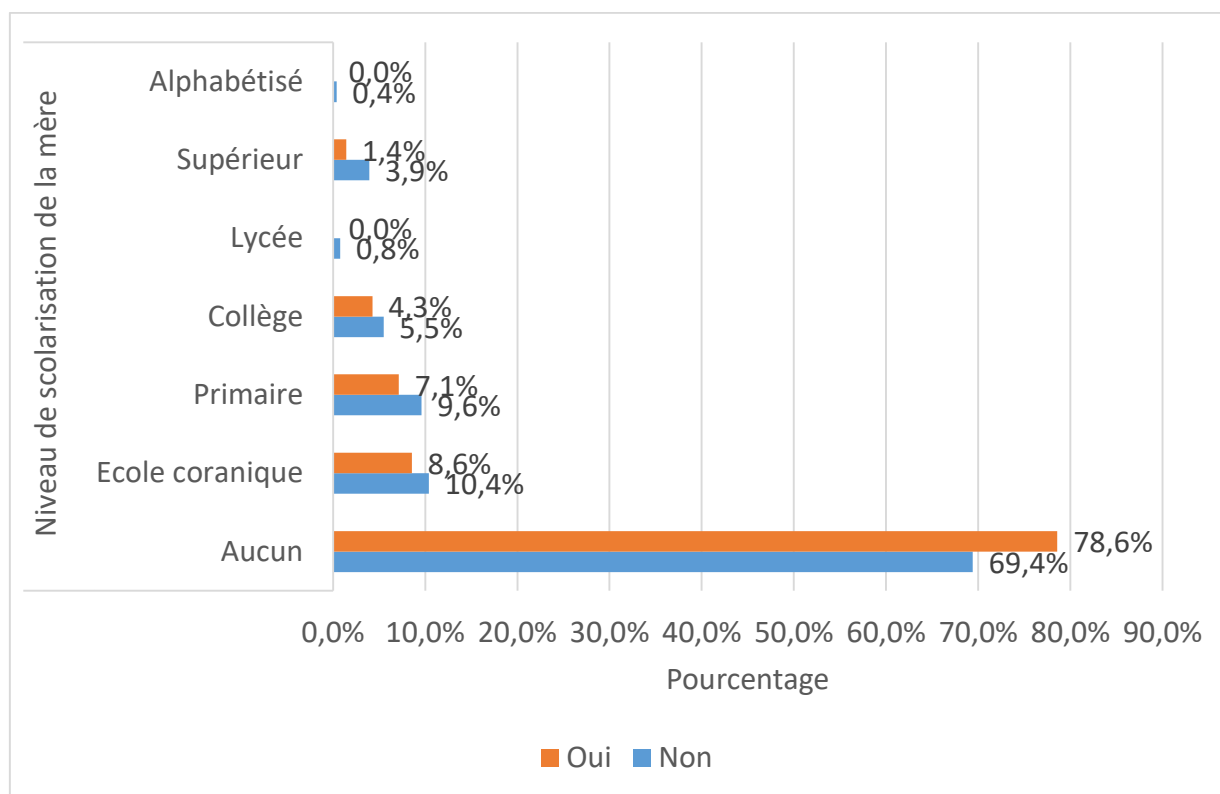


Figure : Répartition du niveau d’instruction des femmes et l’usage du breuvage de Djitti.

Le croisement entre le niveau d’instruction des mères et l’usage du Djitti démontre que :

- La formulation de breuvage fortifiant pour nourrissons et jeune enfant est plus mis en application dans les ménages où les mères allaitantes ont un niveau d’instruction précaire ;
- Le niveau d’instruction des mères influence l’usage des plantes médicinales dans les soins du nourrisson, car de par les données de l’enquête menée, les mères instruites ont une certaine retenue face à cette pratique ancestrale.

II. Les plantes et les organes des plantes utilisés dans la confection du « Djitti » ou comme galactogènes, leur mode de préparation et leur formulation.

1. Les plantes médicinales les plus fréquentes que les mères utilisent dans la formulation du Djitti.
L’identification scientifique des espèces recensées au cours de l’enquête a été réalisée au Laboratoire de Biologie de la faculté des Sciences et Technique de l’Université Abdou Moumouni de Niamey (UAM/FAST). En outre la liste des espèces recensées dans la zone d’étude a été comparée avec celle de l’herbier et du Catalogue des Plantes médicinales du Arbonnier (2000).

Tableau II : Noms scientifiques et vernaculaires des plantes médicinales.

Noms scientifiques	Noms vernaculaires (Zarma : Z, haoussa : H)
<i>Hygrophila senegalensis</i> T Anders	Banguizé (Z), Iyan tapki (H)
<i>Gossypium herbaceum</i>	Habou lamba ou habou boundou (Z), Andiga kata (H)
<i>Stylosantes erecta ou fruticosa</i>	Kasantourou ou Gidandonsé (Z), Tsihoko (H)
<i>Blepharis linearifolia</i> . Pers	Barkar sikani gangui (Z), Gringal (H)
<i>Taccazea apiculata</i> Oliv	Habka (Z), Yadiyar kada (H)
<i>Bytuospermum paradoxum (parkii)</i>	Boulanga (Z), Kaday (H)
<i>Bauhinia rufescens</i> Lam	Namari ou hayga hampa (Z), Dirga (H)
<i>Tephrosia lupinifolia</i> DC. Key	Ganda damsé (Z), gudjya'l kasa (H)
<i>Chrozophora brochiana</i> Vis	Doré (Z), Dam aigi (H)
<i>Endostemon tereticaulis</i> (Poir) M. Ashby	Gangui gabou (Z), Kimba Bayou (H)
<i>Indigofera leptoclada</i> Harms. Key	Harkaniya (Z),
NI (non identifier)	Daké-daké (Z)

Z : Zarma, H : Haoussa.

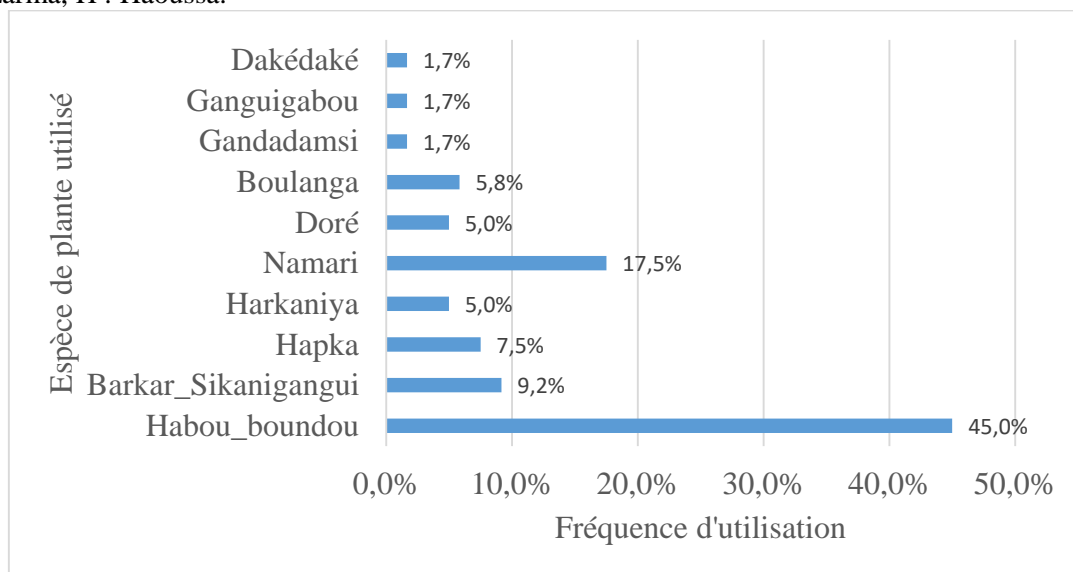


Figure 2 : Plantes médicinales entrant dans la composition du Djitti.

2. Méthode de préparation du *Djitti*

Dans la totalité des ménages ayant eu recours à cette formulation, l'ont préparé par décoction (Porter à ébullition le cocktail : mélange des organes des différentes plantes entrant dans la formulation fortifiante).

3. Les organes des plantes entrant dans la composition du *Djitti*

Tableau III : Organes (parties des plantes) des plantes entrant dans la composition du *Djitti*

Plantes (noms vernaculaires)	Organes de plantes
<i>Hygrophila senegalensis T Anders</i>	Parties aériennes
<i>Gossypium herbaceum</i>	Parties aériennes (tiges feuillés et feuilles et fleurs)
<i>Stylosantes erecta ou fruticosa</i>	Plante entière
<i>Blepharis linearifolia. Pers</i>	Plante entière
<i>Taccazea apiculata Oliv</i>	Parties aériennes
<i>Bytuospermum paradoxum (parkii)</i>	Parties aériennes (feuilles)
<i>Bauhinia rufescens Lam</i>	Parties aériennes
<i>Tephrosia lupinifolia DC. Keay</i>	Plante entière
<i>Chrozophora brochiana Vis</i>	Plante entière
<i>Endostemon tereticaulis (Poir) M. Ashby</i>	Parties aériennes
<i>Indigofera leptoclada Harms. Keay</i>	Plante entière

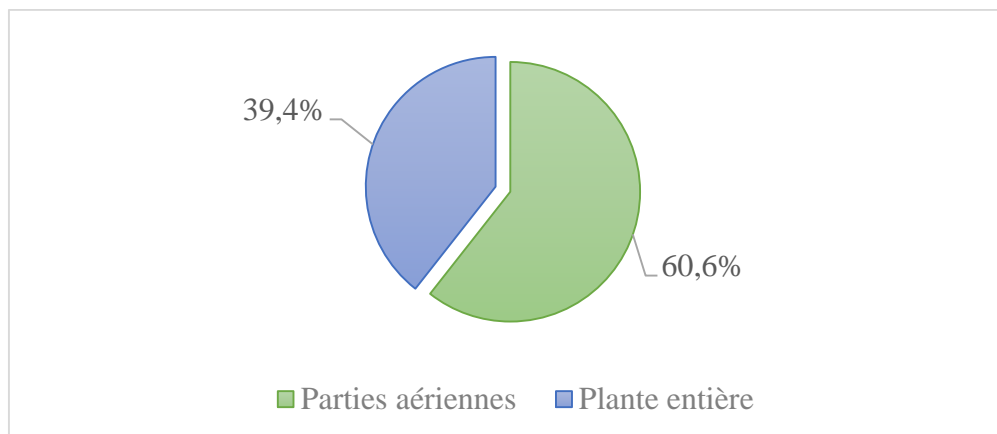


Figure 4 : Parties ou organes des plantes entrant dans la formulation du Djitti.

4. Le *Djitti* d'une mère est-il formulé d'une manière invariante ou selon la pathologie dont souffre le nourrisson ?
De par les résultats de l'enquête menée, la formulation du *Djitti* se fait de diverse manière (association variée) et diffère selon le savoir-faire ancestral, de la mère, matrone ou du guérisseur.

Tableau IV : Différentes associations des plantes médicinales pour formuler le *Djitti*.

<i>Djitti</i>	Type d'association (<i>Djitti</i>)
	Banguizé, Habou boundou, Kasantourou, Barkar sikani gangui
	Habou boundou ou habou lamba
	Habou boundou, Habka, Kasantourou, Barkar sikani gangui
	Habou boundou, Kasantourou
	Harkaniya
	Kasantourou, Habou boundou, Boulanga
	Kasantourou, Habou boundou, Boulanga, Harkaniya
	Namari, Kasantourou
	Namari, Doréy, Habka
	Namari, Doréy, Habou boundou, Ganda damsi, Habka
	Namari, Doréy, Habka
	Namari, Doréy, Kasantourou, Barkar sikani gangui, Daké-daké, Habou boundou
	Namari, Ganda damsi, Doréy
	Namari, Habou boundou

5. La formulation du *Djitti* évolue-t-elle avec l'âge du nourrisson
La pratique de la confection du décocté fortifiant pour nourrissons et jeune enfant (*Djitti*) commence dès l'âge de deux (2) semaines avec dans la presque totalité des cas d'une décoction à base de *Gossypium herbaceum* (Habou lamba en Zarma) ou (Andiga kata en Haoussa) après la naissance jusqu'à l'âge maximal de 3 à 4 mois en diversifiant cette fois ci la formulation avec une combinaison des plusieurs plantes qui varie selon le savoir-faire et le secret ancestral détenu par la mère, matrone ou guérisseur.
6. Le pourquoi le *Djitti* est donné aux nourrissons et le rôle bénéfique qu'apportent les plantes
Dans la totalité des ménages ayant eu recours à cette formulation de décocté pour nourrissons comme fortifiant pour leurs pouvoirs prophylactiques ou curatifs supposés ou par ce qu'elles sont censées faciliter la croissance et le gain pondéral. Le rôle bénéfique des plantes est essentiellement fortifié et protéger les nourrissons contre les grandes causes de la morbidité et mortalité infantile (fortification et protection infantile).

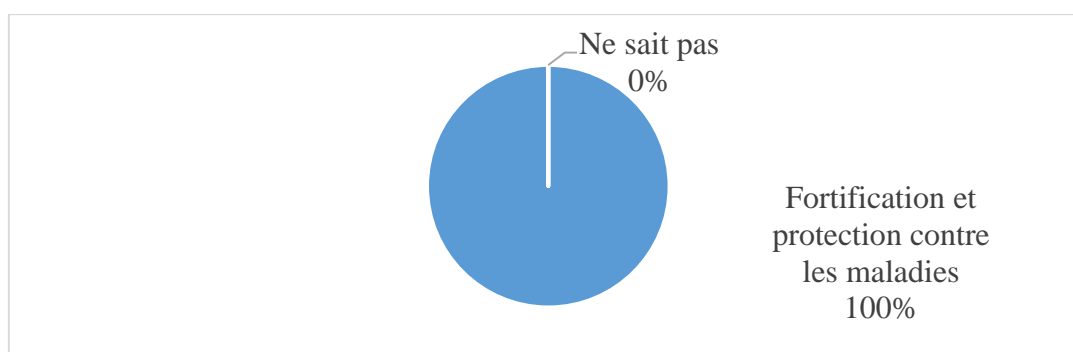


Figure 5 : Rôle bénéfique du *Djitti* selon les ménages.

7. Plantes galactogènes, recettes d'utilisations

Tableau V : Plantes galactogènes (Noms scientifiques, noms vernaculaires et recettes d'utilisations).

Noms scientifiques	Noms vernaculaires	Recettes d'utilisations
<i>Sonchus chevalieri</i> O. Hoffm et Muschl	Ko kulu gna (Z),	Décoction de la partie aérienne

<i>Chrozophora brochiana</i> Vis	Doréy (Z), Damji (H)	Décoction de la partie aérienne
<i>Euphorbia balsamifera</i> Ait ; Kea.	Baré gna (Z), Aguwa (H)	Poudre des feuilles séchées (mélange avec bouillie de mil)
<i>Arachis hypogaeae</i>	Damsi kolanché (Z), Goujiya (H)	Boisson issue de la peau rouge des graines
<i>Tephrosia purpera</i>	Massa (Z) ; Margwa (H)	Décoction de la partie aérienne

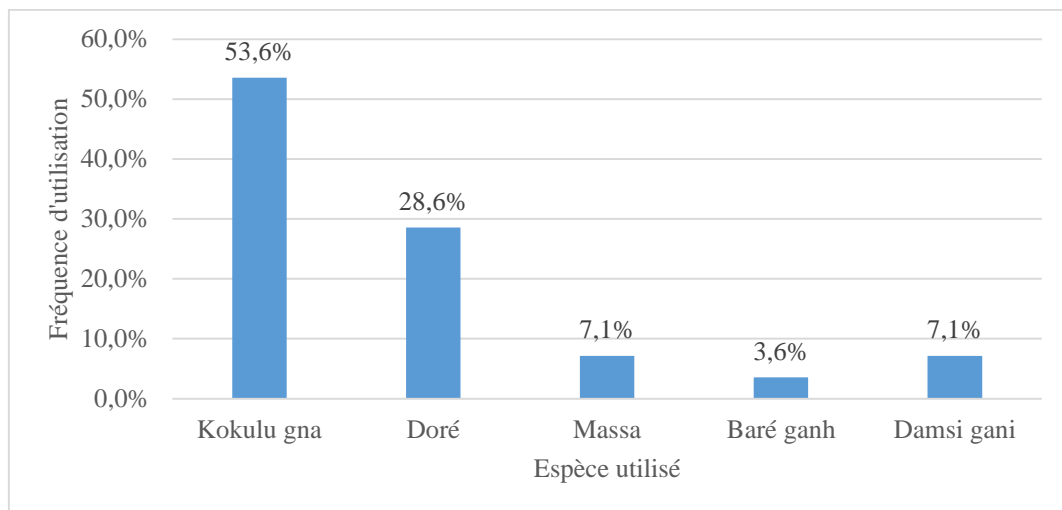


Figure 6 : Plantes galactogènes.

8. Vertus des plantes

Toutes ces plantes médicinales utilisées dans les soins des nourrissons (fortifiant) et des mères (galactogènes) à part leurs vertus thérapeutiques, possèdent également d'autres valeurs et propriétés médicinales qui font d'elles des sources de potentiels médicaments traitant d'autres affections et pathologie.

III. Role et impacts du changement climatique et de la pression démographique sur les plantes médicinales dans les soins du couple mère-enfant.

L'usage des plantes pour traiter (phytothérapie : médication par les plantes) , bien que représentant une pratique ancestrale permettant de se soigner avec les extraits végétaux selon des savoir-faire détenu par les ancêtres et guérisseurs, cette pratique se décline du jour au lendemain à l'échelle planétaire mais aussi régionale et plus particulièrement dans la zone d'étude où le couvert végétal connaît une régression importante en raison du changement climatique (induction de la sécheresse) et de l'augmentation de la population (augmentation des champs et une extension d l'occupation de l'espace autrefois couvrant le couvert végétal). La combinaison de ces deux facteurs naturels et anthropiques constitue des risques d'aggravation de la désertification et donc de la régression des ressources naturelles dont les plantes médicinales avec lesquelles les populations rurales se soignent.

IV. Les modes d'acquisition des plantes entrant dans la formulation

Sur les 580 ménages de l'échantillonnage seulement 11,9% contre 88,1% ont donné du *Djitti* à leurs nourrissons, et se sont procurés les matières premières c'est à dire les différents organes des plantes entrant dans la préparation du *Djitti* soit par :

- Achat
- Cueillette

L'acquisition de ces organes des plantes dépend de la saison de naissance du bébé, bien qu'actuellement les mères allaitantes ont tendance à abandonner cette pratique du fait de la raréfaction des plantes, qui disparaissent du couvert végétal menacé et de l'augmentation de la population occupant les champs autrefois couvert par les espèces végétales (causes de changement climatique et la pression démographique et migratoire constituant ainsi des facteurs majeurs de risque d'aggravation de la

désertification et par conséquent de raréfaction des ressources végétales dont notamment les plantes médicinales. A ces raisons s'ajoute les recommandations édictées par l'OMS sur l'allaitement maternel exclusif (AME) qui stipule la mise au sein de l'enfant jusqu'à l'âge de 6 mois sans faire recours à l'eau ou à toutes autres boissons.

Conclusion

Etude toujours en cours, afin d'apporter des réponses claires et précises aux différents objectifs posés par ce présent projet de recherche.

Références bibliographiques

1. Faith DP., (2005). Global biodiversity assessment: integrating global and local values and human dimensions. *Global Environmental Change*. 15 : 5–8.
2. Thomas JA., Telfer MG., Roy DB., Preston CD., Greenwood JJ., Asher J., Fox R., Clarke R.T. et Lawton JH. (2004). Comparative losses of British butterflies, birds, and plants and the global extinction crisis. *Science* 303: 1879–1881.
3. Tilman D. (2001). An evolutionary approach to ecosystem functioning in changing environments: a theoretical framework. *Proceedings of the National Academy Sciences*. 98(20): 11376–11381.
4. Pimm SL. Et Raven P. (2000). Extinction of numbers. *Nature*. 403: 843–845.
5. Sala OE., Chapin FS., Armesto JJ., Berlow E., Bloomfield J., Dirzo R., Huber-Sanwald E., Huenneke LF., Jackson RB., Kinzig A., Rik Leemans R., Lodge DM., Mooney HA., Oesterheld M., Poff NL., Sykes MT., Walker BH., Walker M., Wall DH. (2000). Global Biodiversity Scenarios for the Year 2100: Review Biodiversity. *Science*. 287: 1770-1774.
6. Opdam P., Wascher D. (2004) Climate change meets habitat fragmentation: linking landscape and biogeographical scale levels in research and conservation. *Biological Conservation*. 117: 285–297.
7. Devineau JL., 2001. Les espèces ligneuses indicatrices des sols dans les savanes et les vieilles jachères de l'Ouest du Burkina Faso. *Phytocoenologia*. 31 : 325-351.
8. Butare I. (2003). Pratiques culturelles, la sauvegarde et la conservation de la biodiversité en Afrique de l'ouest et du centre : actes du Séminaire-atelier de Ouagadougou, International Development Research Center (Canada), 281p.
9. WHO. (2014a). World Health Organization. Quantitative Risk Assessment of the Effects of Climate Change on Selected Causes of Death, 2030s and 2050s, OMS, Genève, 2014.
10. Ouédraogo M. (2008). Les galeries forestières de la Réserve de Biosphère de la Mare aux hippopotames du Burkina Faso : caractéristiques, dynamique et ethnobotanique. Thèse de doctorat. Université de Ouagadougou. 274p.
11. Giannini A., Saravanan R., Chang P. (2003). Oceanic forcing of Sahel rainfall on interannual to interdecadal time scales. *Science*. 302:1027-1030.
12. Moussa MB., Inoussa MM., Ambouta KJ-M., Mahamane A., Jorgen AA., Harissou Y. et Rabiou H. (2013). Caractérisation de la végétation ligneuse des organisations pelliculaires de surface des agrosystèmes à différents stades de dégradation de la Commune rurale de smiri (Niger). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 7(5) : 1963-1975.
13. Thiombiano A., Schmidt M., Kreft H. et Guinko S. (2006). Influence du gradient climatique sur la distribution des espèces de Combretaceae au Burkina Faso (Afrique de l'Ouest). *Candollea*. 61 (1) : 189-213.
14. Taïta P., (2000). La diversité des plantes spontanées utilisées dans l'alimentation et la pharmacopée dans les régions de la RBMH et de Manga. Communication présentée lors du FRSIT 2000, 4e édition. Ouagadougou, 3 – 8 Avril 2000. 31p.
15. Séréme A., Millogo-Rasolodimby J., Kouda-Bonafos M., Guinko S., Nacro M., 2001. Vertus thérapeutiques des Anacardiaceae en liaison avec leurs métabolites et leur richesse en tanins. *Annales de Botanique de l'Afrique de l'Ouest*. 00 (0) : 63-71.
16. Yaméogo G., Yélémou B. et Traoré D. (2005). Pratique et perception paysanne dans la création de parc agroforestier dans le terroir de Vipalogo (Burkina Faso). *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*. 9(4) : 241-248.
17. Ganaba S., Ouadba J.M. et Bounounou O., 2005. Exploitation traditionnelle des végétaux spontanés en région sahélienne du Burkina Faso. *Vertigo*. 6(2) : 1-14.
18. Handa SS., Rakesh DD., Vasisht K. (2006). *Compendium of Medicinal and Aromatic Plants ASIA*. Earth, Environmental and Marine Sciences and Technologies ICS-UNIDO, AREA Science Park.
19. Arbonnier M. (2000). Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'Ouest. CIRAD. MNHN. UICN. Montpellier. France 541p.
20. Nacoulma-Ouédraogo O.G. 1996. Plantes médicinales et Pratiques médicales traditionnelles au Burkina Faso : cas du plateau central. Thèse de Doctorat d'Etat ès Sciences Naturelles, Université de Ouagadougou, tome 1, 320p. ; tome 2, 285p.
21. WHO. (2002). World Health Organization. Infant and Young Child Feeding. Model Chapter for textbooks for medical students and allied health professionals. France.
22. Zerbo P., Millogo-Rasolodimby J., Nacoulma-Ouédraogo OG., Van Damme P. 2007. Contribution à l'étude des plantes médicinales utilisées dans les soins infantiles en pays San, au Burkina Faso. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 1(3): 262-274.
23. Wezel A., 2002. Plantes médicinales et leur utilisation traditionnelle chez les paysans au Niger. *Etudes flor. Vég. Burkina Faso* 6: 9-18.
24. Manzo LM., Moussa I., Ikhiri K. (2017). Les plantes médicinales utilisées dans le traitement des diarrhées au Niger : étude ethnobotanique. *Algerian Journal of Natural Products*, 5(2) : 475-482.
25. Ikhiri K., Garba M., Saadou M. (1984). Recherche sur la pharmacopée traditionnelle au Niger. CELHTO, UNESCO, Rapport scientifique, Niamey ; 45p.
26. Akouedegni CG., Gbégo Tossa I., Daga FD., Koudandé DO., Hounzangbé-Adoté MS., (2012). Synthèse des connaissances sur les plantes galactogènes et leurs usages en République du Bénin. *Bulletin de la Recherche Agronomique du Bénin*. (On line) : 1840-7099. <http://www.slire.net>.

27. Betti J.L. (2002). Usages populaires des plantes galactogènes dans l'arrondissement de Mintom au sud de la Réserve de biosphère du Dja (Cameroun). *SOMA*, 1 : 35-46.
28. Bourobou–Bourobou, H., H. Mounzea, B. Mbatchi, B. Posso, 1996 : Quelques plantes galactogènes utilisées par les Bapunu au Gabon. *Revue Méd. Pharm. Afr.*, 10(1), 71-77.
29. Mounkaila S., Soukaradji B., Morou B, Karim S., Bil-Assanou H., Issoufou H., Mahamane A., Ikhiri K., Saadou M. (2017). Inventaire Et Gestion Des Plantes Médicinales Dans Quatre Localités Du Niger. *European Scientific Journal*.13(24) : 498 – 521.
30. Dan Guimbo. (2007). Etude des facteurs socio-économiques influant la biodiversité des systèmes des parcs agroforestières dans le sud-ouest nigérien : cas des terroirs villageois de Boumba, Sorikoira, Gongueye et Djabbou. Mémoire de DEA. Université Abdou Moumouni.
31. Hassane H. (2008). Répertoire des espèces végétales les plus couramment utilisées en pharmacopée traditionnelle et impact des techniques de prélèvement sur la diversité biologique dans la réserve de Biosphère du W du Niger. Mémoire de DEA Géographie, Milieux et sociétés des espaces arides et semi-arides ; Aménagement-Développement, Université Abdou Moumouni, Niamey (Niger), 133 p.
32. Arbonnier M. (2002). Arbres, arbustes et lianes des zones, sèches d'Afrique de l'ouest. MNHN. 3^{ème} édition. QUAE, Paris, 573p.
33. Adjanohoun EJ., Ahyi A.M.R., Aké Assi L., Dan Dicko L., Daouda H., Delams M. De Souza L., Garba M., Guinko S., Kagnonga A., N'Golo D., Raynal J.L. et Saadou M., (1980). Médecine traditionnelle et pharmacopée : Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Niger. ACCT, Paris. 251p.
34. INS, Niger, Enquête Démographique et de Santé et à Indicateurs Multiples (EDSN-MICS IV), Niger 2012.
35. Recensement général de la population et de l'habitat 2012 (Décret N° 2011-059/PCSRD/ME/F DU 27 Janvier 2011).
36. Monographie régionale de DOSSO, UNFPA 2016.

Identification de flavonoïdes par CLHP-MS/MS des extraits des graines de haricot mungo (*Vigna radiata*) produit dans des conditions agroécologiques du Burkina Faso

Mahamadi Ouedraogo¹, Adama Hema¹, Bazoin Sylvain Raoul Bazié², Elie Kabré², Serge W. F. M. Zida³, Benoit Joseph T. Batiéno³, Eloi Palé¹, Mouhoussine Nacro¹

¹ Laboratoire de Chimie Organique et Physique Appliquées, Département de Chimie, UFR-SEA, Université Joseph KI-ZERBO, 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso

² Laboratoire national de santé publique (LNSP), 09 BP 24, Ouagadougou 09, Burkina Faso

³ Institut de l'Environnement et de Recherches Agricoles du Burkina Faso (INERA) 04 BP 8545 Ouagadougou 04, Burkina Faso

Résumé

Introduit au Burkina Faso depuis les années 1920, le haricot mungo constitue de nos jours l'une des légumineuses d'importance majeure en raison de son cycle de maturation court (45 à 55 jours) et de ses potentialités nutritionnelles. L'objectif de ce travail a été de contribuer à une meilleure connaissance des composés bioactifs des graines du haricot mungo vulgarisé au Burkina Faso sous le nom Beng Tigré. Pour ce faire, l'étude s'est focalisée sur l'identification de flavonoïdes majoritaires des extraits des graines du haricot mungo en utilisant la chromatographie liquide haute performance couplée à la spectrométrie de masse en tandem (CLHP-MS/MS). Par cette méthode, quatre composés ont été identifiés : la naringénine 8-C-glucoside, la lutéoline 8-C-glucoside, l'apigénine 6-C-glucoside et la lutéoline 7-O-rutinoside. Ces composés dits bioactifs font l'objet de recherche de plus en plus croissante en raison de leur potentiel biologique élevé. Ils contribuent à montrer que la consommation régulière des graines du haricot mungo pourrait aider à réduire les risques de maladies cardiovasculaires et des cancers.

MOT-CLES : *vigna radiata*, flavonoïdes, CLHP-MS/MS.

Identification of flavonoids by HPLC-MS/MS of mung bean (*Vigna radiata*) seed extracts produced under agroecological conditions in Burkina Faso

Abstract

Introduced in Burkina Faso since the 1920s, mung bean is nowadays one of the most important legumes because of its short maturation cycle (45 to 55 days) and its nutritional potential. The objective of this work is to contribute to a better knowledge of the bioactive compounds of mung bean seeds popularized in Burkina Faso under the name Beng Tigré. Then, the study focused on the identification of major flavonoids from mung bean seed extracts using high performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). By this method, four compounds were identified: naringenin 8-C-glucoside, luteolin 8-C-glucoside, apigenin 6-C-glucoside and luteolin 7-O-rutinoside. These so-called bioactive compounds are the subject of growing research due to their high biological potential. They help to show that regular consumption of mung bean seeds could help reduce the risk of cardiovascular disease and cancer.

Key words: *vigna radiata*, flavonoids, HPLC-MS/MS.

1. INTRODUCTION

L'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) a proclamé l'année 2016 Année internationale des légumineuses [1]. En effet, les légumineuses sont particulièrement appréciées pour leurs produits riches en nutriments, notamment la graine et, très souvent, les feuilles et les gousses [2].

Au Burkina Faso, la légumineuse la plus rependue et consommée est le niébé, au côté duquel on peut citer le voandzou, le soja. Cependant, avec le changement climatique, les légumineuses cultivées sous nos tropiques peuvent ne plus suffire à répondre à la demande sans cesse croissante des populations. Ainsi, l'introduction dans l'agriculture burkinabé d'une légumineuse telle que le haricot mungo pourrait contribuer à la résilience des populations face aux effets du changement climatique en augmentant l'offre en matière de légumineuses et aidé à lutter contre la malnutrition.

Le haricot mungo est en effet une légumineuse à graines annuelle de cycle court (45-55 jours) de la famille des Fabacées et largement cultivé dans les régions tropicales et subtropicales du monde [3]. Il est principalement cultivé en rotation avec les céréales. Le haricot mungo représente également une opportunité de produire des aliments riches en protéines pour les populations rurales dans des conditions climatiques changeantes [4]–[6].

Nos recherches antérieures sur 84 cultivars de haricot mungo ont montré que les graines sont d'excellentes sources de protéines, de minéraux et de vitamines, mais également des caroténoïdes et des composés phénoliques tels que les flavonoïdes. Ces substances chimiques aux propriétés physico-chimiques très différentes, présentent une large gamme d'activités biologiques telles que les activités antitumorales,

antivirales, antifongiques, antimicrobiennes, antioxydantes, antiparasitaires, etc [7]. Ces composés sont bénéfiques pour prévenir et guérir nombreux maux chroniques à savoir le cancer, le diabète, les maladies cardiovasculaires en raison de leurs propriétés antiradicalaires [8]–[10].

Le but de cette étude est d'identifier par chromatographie liquide haute performance-spectrométrie de masse en tandem (CLHP-MS/MS), les flavonoïdes dans l'extrait brut au système Acétone/Eau/Acide acétique des graines du haricot mungo acclimaté au Burkina Faso.

2. MATERIELS ET METHODES

2.1. Matériel végétal

Les graines du haricot mungo (Beng Tigré) ont fait l'objet de notre étude. Elles ont été fournies par le laboratoire de Génétique et Biotechnologies Végétales de l'Institut de l'Environnement et de Recherche Agricole (INERA) de Kamboinsé (Ouagadougou ; Burkina Faso).



Figure 1 : graines du haricot mungo (Beng Tigré)

2.2. Méthodes

Extraction : Les graines de haricot mungo ont été broyées en poudre puis extraits par macération pendant 24 heures à 4 °C avec le système acétone/eau/acide acétique (70 : 29,5 : 0,5 ; v/v). Le filtra obtenu de l'extrait a été concentré à sec sous pression réduite ($T = 40\text{ °C}$) puis séché au dessiccateur sous vide afin de disposer d'un extrait brut de composés phénoliques totaux [12].

Identification des flavonoïdes par CLHP-MS/MS : l'extrait brut du haricot mungo a été soumis à une CLHP couplée à la spectrométrie de masse en tandem équipé d'une source d'ionisation par électrospray en mode positif (ESI) pour l'identification et la caractérisation des flavonoïdes. En effet, un système CLHP de type Agilent Technologie infinitely better 1290 a été utilisé pour la séparation chromatographique. Elle est munie d'une colonne en phase inverse C18 de type zorbax sb de longueur 250 mm et de diamètre 4,6 mm dont la taille des particules est de 5 μm . L'élution a été réalisée avec une phase mobile A (eau 5 % d'acide formique v/v) et une phase mobile B (l'acétonitrile 5 % d'acide formique v/v). Le gradient d'élution en fonction du temps exprimé en pourcentage de volume de la phase mobile A et de la phase mobile B a été programmé comme suit : 0 à 5 min, 5 % de B ; 5 à 15 min, 10 % de B ; 15 à 25 min, 10 % de B ; 25 à 35 min, 12 % de B ; 35 à 50 min, 15 % de B ; 50 à 60 min, 18 % de B ; 60 à 80 min, 25 % de B et 80 à 90 min, 30 % de B. Le débit a été maintenu à 0,6 mL/ min et la température de la colonne à 25°C. Le balayage par spectrométrie de masse a été effectué en mode positif avec un intervalle de balayage de 200-1200 m/z. La nébulisation a été effectuée à 200°C avec un débit simultané de N_2 à 15 psi. Les tensions capillaires ont été réglées à 3,5 kV. Les données ont été analysées à l'aide du logiciel LC/ MS Data Acquisition for 6400 séries triple quadrupôle version B.06.00 Bulld 6.0.6025.0.

Le principe a consisté à injecter chaque échantillon en solution à un débit constant de l'ordre de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ dans un capillaire conducteur porté à un potentiel d'environ 3500 KV par rapport à une contre électrode nommée cône (sample cone, $\sim 15\text{ V}$). Un gaz de désolvatation (N_2 sec) avec un débit approximatif de 500 L/h entoure le capillaire et favorise la vaporisation de l'échantillon. Lorsque le potentiel du capillaire est chargé positivement, les ions positifs générés seront analysés et inversement. Les ions générés à l'intérieur du dispositif, sont attirés vers le cône d'extraction où ils seront fragmentés. Ces fragmentations se poursuivront dans la cellule de collision lors des analyses par spectrométrie de masse en tandem.

3. RESULTATS ET DISCUSSIONS

L'extrait brut du haricot mungo soumis à la CLHP a donné quatre signaux significatifs à des temps de rétention t_R différents (**Figure 2**). Quatre de ces signaux (**1** ; $t_R = 47,32$ min, **3** ; $t_R = 37,64$ min, **5** ; $t_R = 58,35$ min, **6** ; $t_R = 64,67$ min), susceptibles de correspondre à des flavonoïdes ont fait l'objet de fragmentation en MS/MS.

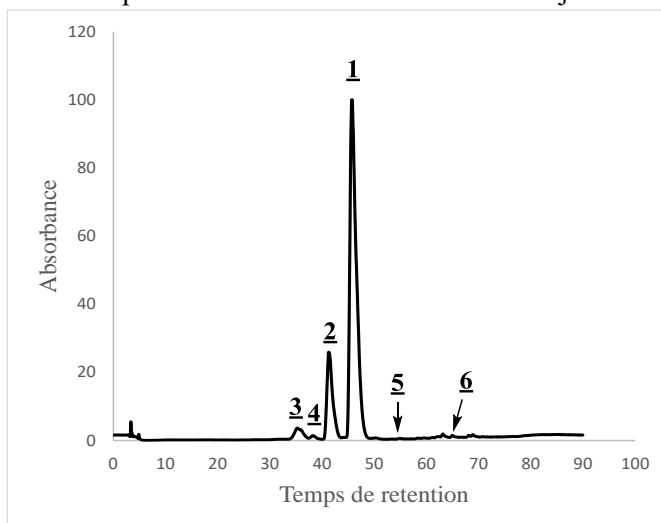


Figure 2 : chromatogramme CLHP de l'extrait brut du haricot mungo

Les différents signaux observés correspondent à des molécules protonées $[M+H]^+$, détectées respectivement à **1** : m/z 435, **3** : m/z 449, **5** : m/z 595 et **6** : m/z 433. Ces molécules détectées pourraient correspondre respectivement à des masses calculées des formules brutes $C_{21}H_{23}O_{10}$, $C_{21}H_{21}O_{11}$, $C_{27}H_{31}O_{15}$, $C_{21}H_{21}O_{10}$. Ces formules pouvant également correspondre à celles de flavonoïdes de type flavones monoglycosylés (mono-*O*-glycosylés ou mono-*C*-glycosylés) ou diglycosylés. Une étude précédente a révélé que les flavonoïdes les plus abondants du haricot mungo possèdent l'aglycone de l'apigénine ou de lutéoline [22]. Il faut aussi rappeler que les pertes neutres de 132, 162 et 146 unités de masse permettent d'identifier respectivement les pentosides (xylose ou arabinose), les hexosides (glucose ou galactose) et le désoxyhexoside (rhamnose) dans le cas de flavonoïdes *O*-glycosylés [23]. Dans le cas de flavonoïdes *C*-glycosylés, en ESI négatif, l'observation d'une perte neutre 120 u et 90 u correspond à un motif hexose, une perte de 104 u et 74 u correspond à un motif de désoxyhexose et une perte de 90 u et 60 u à celle d'un motif de pentose. En ESI positif, la perte de 120 u correspond à un hexose [24].

L'analyse du spectre MS/MS du composé à m/z 435 (composé **1**) montre des ions fragments caractéristiques des flavonoïdes *C*-glycosylés qui peut être en position 6 ou 8. En effet, on observe la présence de l'ion à m/z 315 ($[^{0,2}X]^+$) couramment rencontrés parmi les ions fragments des flavonoïdes *C*-glycosylés. Cet ion permet de déduire la nature de l'aglycone qui est ici la naringénine ($[^{0,2}X-42]^+$) [25]. La présence ou l'absence de certains ions fragments dans le spectre MS/MS permet de distinguer les isomères 8-*C* des 6-*C* glycosides [25]. Dans le cas des 6-*C* glycosides l'ion à m/z $[M+H-120; ^{0,2}X]^+$ se fragmente à son tour pour donner par exemple les ions à m/z $[^{0,2}X-CHO]^+$ et $[^{0,2}X-H_2O]^+$. Ces ions non pas pu être observés dans la fragmentation du composé. De plus, on assiste souvent à une fragmentation du cycle C chez les 6-*C*-glycosides donnant ainsi des ions fragments à m/z $[^{1,3}A]^+$ et $[^{0,2}B]^+$. Ces ions également ne sont pas observés. Par conséquent, le composé **1** serait la naringénine 8-*C*-glucoside (**Figure 4**).

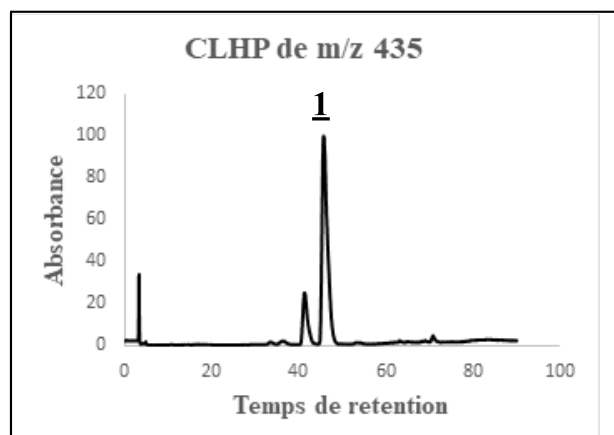


Figure 3 : chromatogramme individuel de l'ion moléculaire m/z 435

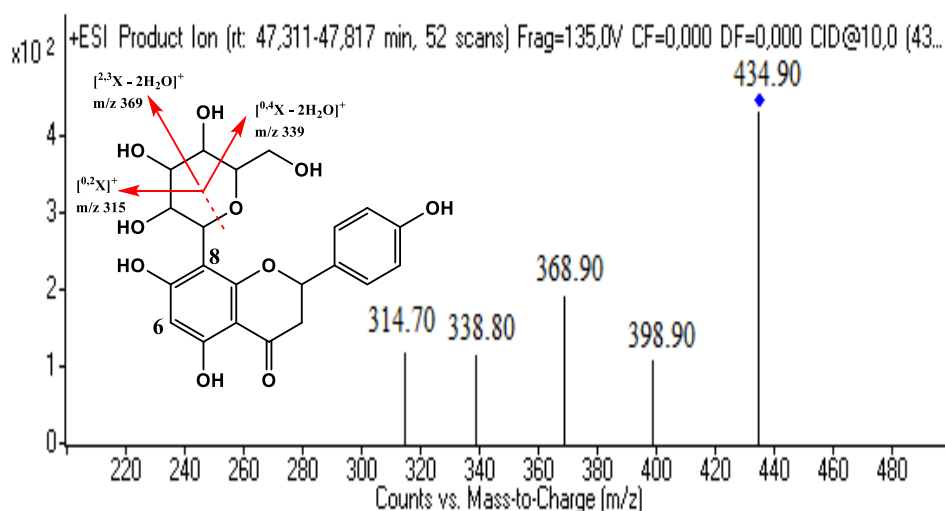


Figure 4 : spectre ESI⁺-MS/MS du composé **1** (m/z = 435)

Le composé **3** détecté à m/z 449 correspond à la molécule éluée après 37,64 min. Le spectre CID correspondant est présenté sur la **Figure 6**. Sur CID, la molécule subit principalement les pertes neutres de 120 u et 150 u conduisant aux ions fragments à m/z 329 [M+H-C₄H₈O₄]⁺ et 299 [M+H-C₄H₈O₄-CH₂O]⁺ respectivement. Comme déjà rappelé, ces pertes sont compatibles avec les ions caractéristiques d'un C-glycoside indiquant la présence d'un hexose (glucose ou galactose) lié à un carbone de la génine. Dans la littérature, les flavonoïdes C-glycosylés sont généralement en position 6 ou 8 [25] et peut être déterminée en observant l'intensité de l'ion correspondant à la première perte d'eau [25]. En ESI positif, si l'ion [M+H-H₂O]⁺ est le pic fragment le plus abondant du spectre MS/MS, alors le sucre est lié au carbone 8 de la génine, sinon il est en position 6-C [25]. Aussi, le pic m/z 329 est plus abondant que celui à m/z 299 dans le cas d'un 8-C. le contraire est observé dans le cas d'un 6-C [24]. Ces observations permettent ainsi de déduire que le composé **3** correspondrait à la lutéoline 8-C-glucoside.

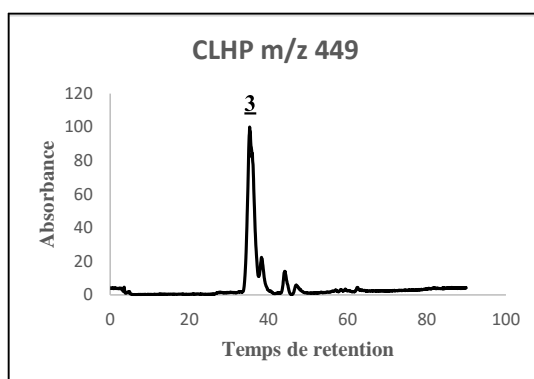
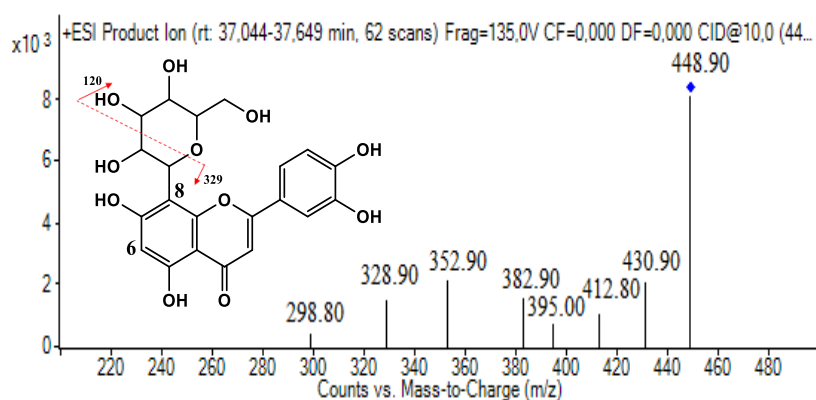
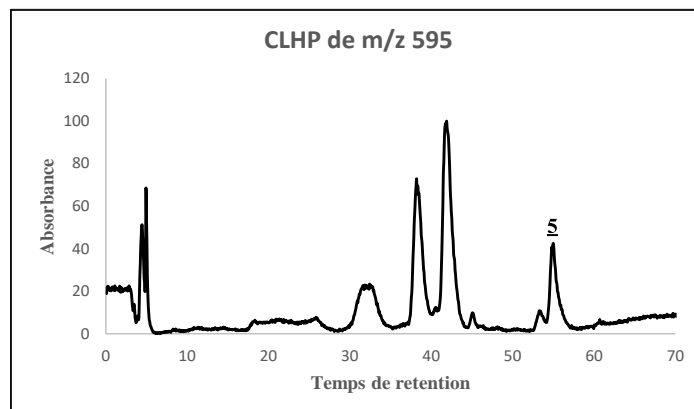


Figure 5 : chromatogramme individuel de l'ion moléculaire m/z 449**Figure 6** : spectre ESI⁺-MS/MS du composé **3** (m/z = 449)

Le composé **5** (m/z 595) élué après 58,35 min subit deux pertes consécutives de 146 u et 162 u, révélant la présence d'un résidu d'hexose (glucose) et d'un résidu de déoxyhexose (rhamnose) attachés au groupement aglycone. Sur le spectre CID, la présence du pic à m/z 449 ($[M+H-146]^+$) implique qu'une unité de sucre est lié à l'autre (liaison osidique) et non directement à l'aglycone [26], [27]. Cela indique une structure O-diglycosylée. On observe également un pic à m/z 287 ($[M+H-146-162]^+$) correspondant à la perte d'un rutinoside. Ce pic à m/z 287 correspondrait à l'aglycone de la lutéoline ou du Kaempférole. Une étude a montré que la lutéoline est plus fréquent dans les graines du haricot mungo [22]. Les données de la littérature montrent également que les flavonoïdes pourraient être glycosylés dans n'importe quelle position, mais la O-glycosylation s'effectue principalement en position 7, comme dans les flavones, les isoflavones, les flavanones et les flavonols [28], [29]. Compte tenu de ces analyses, nous proposons que le composé **5** pourrait être la lutéoline 7-O-rutinoside (**Figure 8**).

**Figure 7** : chromatogramme individuel de l'ion moléculaire m/z 595

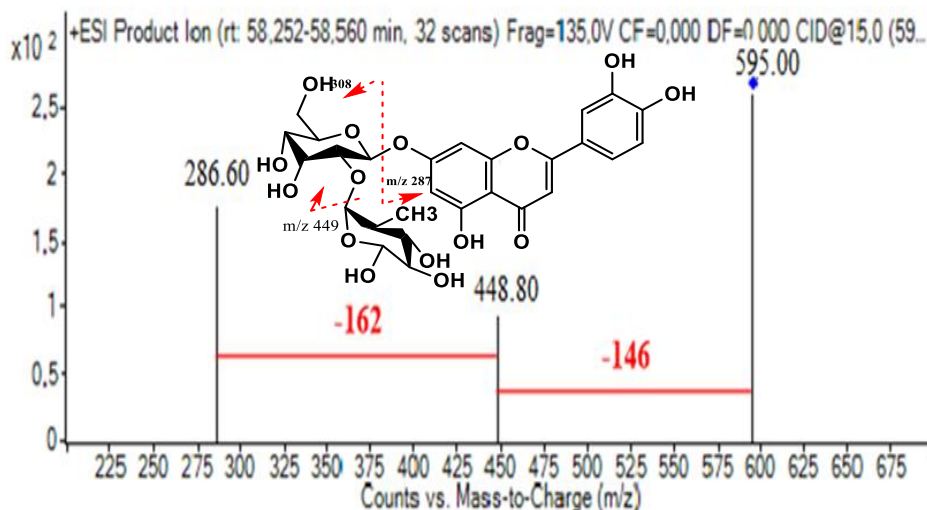


Figure 8 : spectre ESI⁺-MS/MS du composé **5** (m/z = 595)

Le composé **6** élué après 64,67 min correspond à un composé détecté à m/z 433. L'analyse du spectre MS/MS ne montre aucun fragment caractéristique de la perte d'un sucre. Le sucre serait donc lié à l'aglycone par une liaison carbone-carbone (C-glycosylation). L'analyse des ions fragments montre des ions à m/z 283 [^{0,2}X-CH₂O]⁺ et 313 [^{0,2}X]⁺ qui sont caractéristique des flavonoïdes C-glycosylés [30]. Les pics à m/z 270 [^{0,1}X]⁺, 283 [^{0,2}X-CH₂O]⁺ seraient spécifiques aux 6-C-glycoside [25]. Ces ions sont observés sur le spectre MS/MS du composé **6**. En outre, les ions fragments m/z 415, 397 et 379 correspondants à des pertes respectives d'un, deux et trois molécules de H₂O sont des voies de fragmentation caractéristiques de la vitexine (Apigénine 8-C-glycosylé) ou de l'isovitexine (Apigénine 6-C-glycosylé) [31]. Compte tenu de tous ces résultats ainsi que les données de la littérature, la structure probable du composé **4** est l'Apigénine 6-C-glycosylé (**Figure 10**).

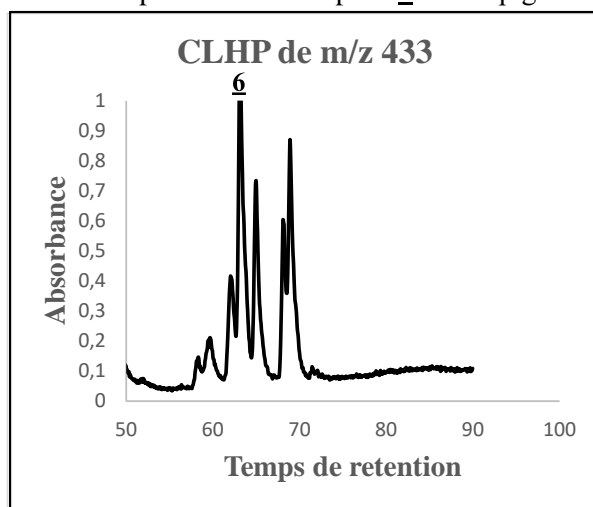


Figure 9 : chromatogramme individuel de l'ion moléculaire m/z 433

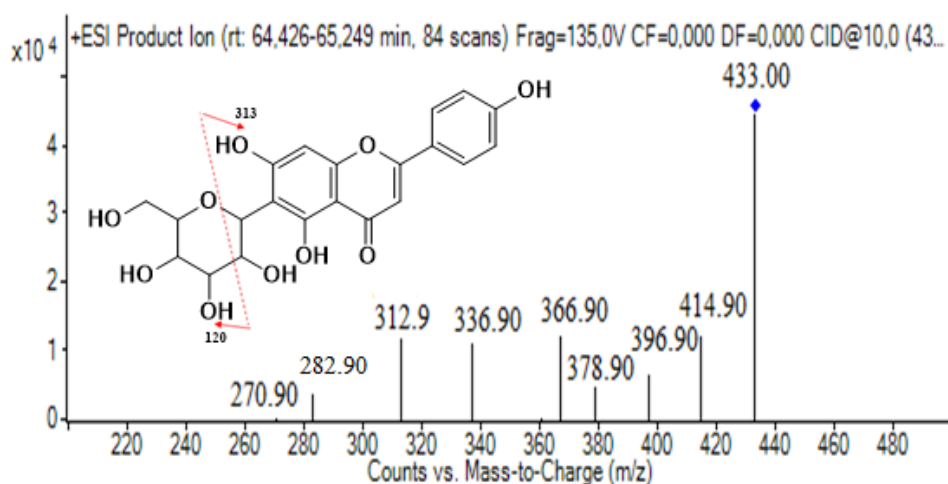


Figure 10 : spectre ESI⁺-MS/MS du composé **6** (m/z = 433)

4. CONCLUSION

Au terme de ce travail, on peut conclure que les graines du haricot mungo (Beng Tigré) renferme des composés bioactifs tels que les flavonoïdes. Les molécules identifiées à savoir la naringénine 8-C-glucoside, la lutéoline 8-C-glucoside, l'apigénine 6-C-glucoside et la lutéoline 7-O-rutinoside sont des composés qui font l'objet d'un intérêt de recherche croissant en raison de leur potentiel biologique élevé. Ces composés contribuent naturellement à prévenir ou guérir certains maux chroniques comme les maladies cardiovasculaires, les cancers, les diabètes etc.

5. RECONNAISSANCE

Cette étude de recherche a été rendue possible grâce à l'appuis technique du laboratoire de Génétique et Biotechnologies Végétales de l'Institut de l'Environnement et de Recherche Agricole (INERA) de Kamboinsé (Ouagadougou ; Burkina Faso) et du Laboratoire National de Santé Publique (LNSP) du Burkina Faso. Les auteurs remercient ainsi, le personnel de l'INERA pour la fourniture du matériel végétal et du LNSP pour sa contribution à l'acquisition de la CLHP-MS/MS

Références :

- [1] S. Snapp, M. Rahmanian, and C. Batello, "Légumes secs et exploitations durables en Afrique subsaharienne," *sous la Dir. T. Calles. Rome, FAO.*, 2018.
- [2] R. A. Dixon and L. W. Sumner, "Legume natural products: understanding and manipulating complex pathways for human and animal health," *Plant Physiol.*, vol. 131, no. 3, pp. 878–885, 2013.
- [3] B. C. Trung, S. Yoshida, and Y. Kobayashi, "Influence of soil moisture stress on the nitrogen nutrition and grain productivity of mungbean. Japanese," *J. Crop Sci.*, vol. 54, pp. 72–78, 1985, doi: 10.1626/jcs.54.72.
- [4] J. Keatinge, W. Easdown, R. Yang, and S. Chadha, M Shanmugasundaram, "Overcoming chronic malnutrition in a future warming world: the key importance of mungbean and vegetable soybean," *Euphytica*, vol. 180, pp. 129–141, 2011.
- [5] J. E. Arsenault, R. J. Hijmans, and K. H. Brown, "Improving nutrition security through agriculture: an analytical framework based on national food balance sheets to estimate nutritional adequacy of food supplies," *Food Secur.*, vol. 7, pp. 693–707, 2015, doi: 10.1007/s12571-015-0452-y.
- [6] C. H. Foyer *et al.*, "Neglecting legumes has compromised human health and sustainable food production," *Nat. Plants*, vol. 2, p. 16112, 2016, doi: 10.1038/nplants.
- [7] J. Bruneton, "Pharmacognosie, Phytochimie, Plante médicinales," *LavoisierTechnique Doc. 3^{ème} éd., Paris*, p. 1120.
- [8] Y. Yao, X. Yang, J. Tian, C. Liu, X. Cheng, and G. Ren, "Antioxidant and antidiabetic activities of black mung bean (*Vigna radiata* L.)," *J Agric Food Chem*, vol. 61, no. 34, pp. 8104–8109, 2013.
- [9] J. Luo, W. Cai, T. Wua, and B. Xu, "Phytochemical distribution in hull and cotyledon of adzuki bean (*Vigna angularis* L.) and mung bean (*Vigna radiata* L.), and their contribution to antioxidant, anti-inflammatory and anti-diabetic activities," *Food Chem*, vol. 201, pp. 350–360, 2016.
- [10] J. P. Singh *et al.*, "In vitro antioxidant and antimicrobial properties of jambolan (*Syzygium cumini*) fruit polyphenols," *LWT Food Sci Technol*, vol. 65, pp. 1025–1030, 2016.
- [11] L. S. Lai, S. T. Chou, and W. W. Chao, "Études sur l'antioxydatives idatives de Hsian-tsoa (*Mesona procumbens* Hemsl) feuille de gomme," *J Agroalim. Chem*, vol. 49, pp. 963–968, 2001.
- [12] O. Mahamadi, H. Adama, W. F. M. Serge, J. T. Benoit, P. Eloi, and N. Mouhoussine, "Détermination des paramètres physico-chimiques et des teneurs en micronutriments antioxydants de dix variétés de mung bean (*Vigna radiata*) produits dans les

- conditions agrécologiques du Burkina Faso,” *JCBPS*, vol. 11, no. 2, pp. 254–274, 2021, doi: 10.24214/jcbps.B.11.2.25474.
- [13] K. Slinkard and V. Singleton, “Viticult,” *Am J. Enol.*, vol. 28, pp. 49–55, 1977.
- [14] J. Zhishen, T. Mengcheng, and W. Jianming, “The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals,” *Food Chem.*, vol. 64, p. 555, 1999.
- [15] Y. Jun, F. Lingling, X. Jian, and X. Yedan, “Ultrasound-assisted extraction of corn carotenoids in ethanol,” *Food Sci. Technol.*, vol. 46, pp. 2131–2131, 2011.
- [16] J. Mc Murry, “Organic Chemistry,” *7th edn. Calif. Brooks/ Cole.*, p. P504 chapter 14, 2008.
- [17] K. Moumouni *et al.*, “Evaluation of Eight Orange Fleshed Sweetpotato (OFSP) Varieties for Their Total Antioxidant, Total Carotenoid and Polyphenolic Contents,” *J. Nat. Sci. Res.*, vol. 3, no. 4, pp. 67–72, 2013.
- [18] M. Burits and F. Bucar, “Phytotherapy Research,” vol. 14, pp. 323–328, 2000.
- [19] W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier, and C. Berset, “Use of free radical method to evaluate antioxidant activity,” *Leb. Wiss. Technol.*, vol. 28, pp. 25–30, 1995.
- [20] M. Abel, H. Adama, O. Mahamouth, P. Eloi, M. Yaya, and N. Mouhoussine, “Etude comparative des teneurs en polyphénols et en antioxydants totaux d’extraits de graines de 44 variétés de voandzou (*Vigna subterranea* (L.)Verdcourt).,” *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, vol. 7, no. 2, pp. 861–871, 2013.
- [21] S. Jiri *et al.*, “Fully Automated Spectrometric Protocols for Determination of Antioxidant Activity: Advantages and Disadvantages,” *J. Mol.*, vol. 15, pp. 8618–8640, 2010.
- [22] D. Cao *et al.*, “Antioxidant properties of the mung bean flavonoids on alleviating heat stress,” *PLoS One*, vol. 6, pp. 2010–2071, 2011.
- [23] L. L. Saldanha, W. Vilegas, and A. L. Dokkedal, “Caractérisation des flavonoïdes et des acides phénoliques dans *Myrcia Bella* cambess. Utilisation de FIA-ESI-IT-MSn et HPLC-PAD-ESI-IT-MS combinés à la RMN,” *Molécules*, vol. 18, pp. 8402–8416, 2013.
- [24] F. Laëtitia, *Signature moléculaire de milieux complexes : Stratégie de couplage à la spectrométrie de masse et interprétation des données.* 2019.
- [25] W. Patrice, W. Jean-Luc, N. Karine, R. H. Kirsten, J. M. Hilary, and H. Kurt, “Evaluation of quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry and ion-trap multiple-stage mass spectrometry for the differentiation of Cglycosidic flavonoid isomers,” *J. Chromatogr. A*, vol. 926, pp. 29–41, 2001.
- [26] B. Domon and C. E. Costello, “Une nomenclature systématique pour les fragmentations d’hydrates de carbone dans les spectres FAB-MS / MS de glycoconjugués,” *Glycoconjugué J*, 1988, vol. 5, pp. 397–409, 1988.
- [27] V. Vukics and A. Guttman, “Caractérisation structurale des glycosides flavonoïdes par spectromètre de masse à plusieurs étages y,” *Spectrom masse Rev.*, vol. 29, pp. 1–16, 2010.
- [28] F. Cuyckens, Y. L. Ma, G. Pocsfalvi, and M. Claeysi, “Stratégies spectrales de masse en tandem pour la caractérisation structurale des glycosides flavonoïdes,” *Analousie*, vol. 28, pp. 888–895, 2000.
- [29] K. Jean Claude, W. O. Moumouni, O. Noufou, B. K. Félix, G. Pascal, and L. B. C. Yvonne, “Total Phenolics and Total Flavonoid Contents, Antioxidant Activity and Flavonoids Identification by High-Performance Liquid Chromatography – Tandem Mass Spectrometry of *Odontonema strictum* (Acanthaceae) Leaves.,” *Asian J. Plant Sci. Res.*, vol. 7, no. 5, pp. 54–63, 2017.
- [30] E. Chan, S. Yap, A. Lau, P. Leow, D. Toh, and H. Koh, “Ultra-performance liquid chromatography/ time-of-flight mass spectrometry based metabolomics of raw and steamed *Panax notoginseng*.,” *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, vol. 21, pp. 519–528, 2007.
- [31] B. Abad-García, S. Garmón-Lobato, L. A. Berrueta, B. Gallo, and F. Vicente, “New features on the fragmentation and differentiation of C-glycosidic flavone isomers by positive electrospray ionization and triple quadrupole mass spectrometry.,” *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, vol. 22, pp. 1834–1842, 2008.

Une nouvelle CystodytineAlkaloïde Tétracyclique aromatique isolés d'une ascidie marine récoltée au large du Sénégal.

Mohamet Diop*, Abou Moussa Sow, Ibrahima NDIAYE, Mohamed Mehiri

¹Département de Chimie, Faculté des Sciences et Techniques, Université Cheikh Anta Diop

BP: 5005, Dakar Fann, Sénégal

*diopmohamet1989@gmail.com

Résumé : Une étude des espèces marines au large de la côte sénégalaise a été réalisée. L'extraction d'une ascidie a permis d'isoler une nouvelle Cystodytine (**2b**) tétracyclique aromatique. Sa structure a été obtenue sur la base des données spectroscopiques et une étude comparative des données bibliographiques des composés de ce genre.

Mots Clés : Eponge, métabolite secondaire, Cystodytine

Introduction :

Le présent travail a été réalisé à l'Institut de Chimie de Nice (I.C.N) dans le laboratoire Produits Naturels Marins sous la direction du Dr Mohamed MEHIRI.

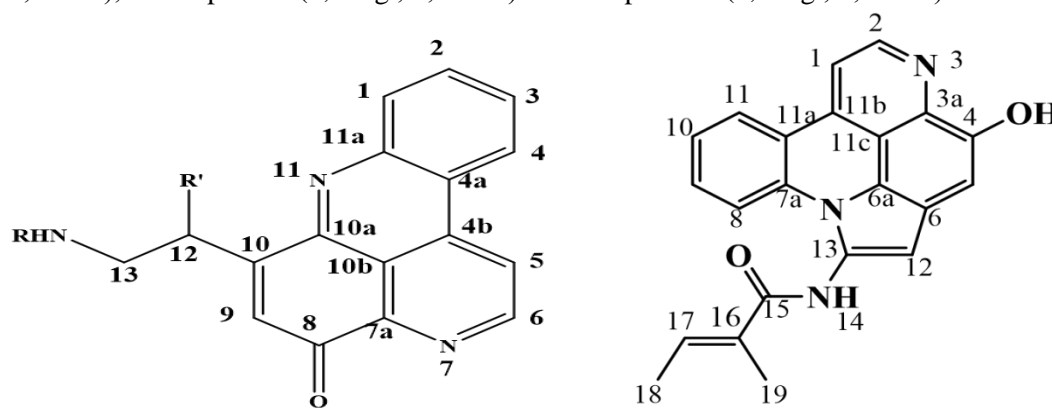
Le plateau continental sénégalais est très riche en espèce marine. Cette richesse pourrait être liée à la présence d'un écosystème marin favorable et plus particulièrement à la combinaison de plusieurs facteurs d'ordre climatologiques, hydrologiques et géomorphologiques (1 ; 2 ; 3 ; 4 ; 5).

2. Matériel et méthodes :

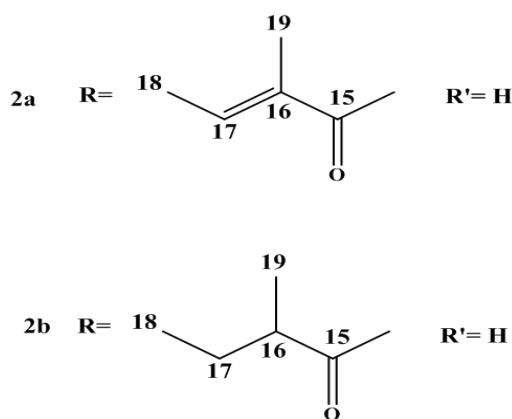
Une étude bibliographique a montré une série d'alkaloïdes aromatiques tétracycliques ayant des structures similaires isolée de tuniciers montrant une puissante activité cytotoxique ainsi qu'une puissante activité de libération de Ca^{2+} dans le réticulum sarcoplasmique (6).

Dans notre axe de recherche étude sur les substances bioactives des organismes marins, nous avons fait des extractions sur une ascidie et isolé une nouvelle Cystodytine Tétracyclique aromatique (**2b**). Dans cet article nous décrivons son isolement et l'élucidation de sa structure à partir des données spectroscopiques (RMN 1D et 2D, MS) et une étude bibliographique.

L'ascidie a été collectée en plongée sous-marin à une profondeur de 4 m au large de Rufisque / Dakar-Sénégal en février 2019. Elle a été lavée pour enlever le sel et le sable puis congelée immédiatement à -18 °C. Le matériel biologique (w.w) de masse 380g a été extrait à l'aide d'un bain ultrason 3 fois successivement avec l'éthanol puis 2 fois successivement avec le Cl_2CH_2 : MeOH, (1 : 1). La fraction d'éthanol a été soumise à une série de séparation et de purification par HPLC sémi-préparative (colonne semi-préparative Macherey Nagel Nucleodur sphinx RP C_{18}) pour donner le composé **1** (4,5mg ; 0,0011%), le composé **2a** (5,1 mg ; 0,0012%) et le composé **2b** (1,9 mg ; 0,0005%).



Arnoamine C (**1**)

**Tableau 1** : Données RMN des composés 1 et 2b.

Données RMN (100/400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) de l'Arnoamine C				Données RMN (100/500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) de laCystodytine B (2b)			
Position	¹³ C	¹ H (J en Hz)	HMBC	Position	¹³ C	¹ H (J en Hz)	HMBC
1	110,13 CH	8,37 d (5,3)	2, 11b	1	132,06, CH	8,32, d (10,6)	2, 4a, 11a
2	145,62 CH	9,04 d (5,1)	1, 3a, 11a, 11b	2	131,87, CH	7,96, t (9,3)	5, 11a
3a	136,45 C			3	130,05, CH	7,86, t (9,2)	1, 4a
4	146,98 C			4	119,48, CH	8,58, m	2, 11a
5	104,29 CH	7,55 s	4, 6, 6a	a	122,02, C		
6	118,12 C			4b	137,33, C		
6a	112,48 C			5	123,05, CH	8,60, m	4b, 10b
7a	135,08 C			6	150,11, CH	9,25, d (6,9)	4, 4b, 7a
8	115,82 CH	8,42 d (8,5)	11, 11a	7a	147,00, C		
9	130,80 CH	7,80 t (7,5)	7a, 11	8	183,62, C		
10	123,71 CH	7,58 t (7,9)	8, 9, 11a	9	132,82, CH	6,96, s	7a, 10, 12
11	125,44 CH	8,80 d (7,7)	2, 7a, 11a, 11b	10	152,47, C		
11a	118,03 C			10a	132,98, C		
11b	132,60 C			10b	118,27, C		
11c	119,12 C			11a	145,38, C		
12	104,72 CH	6,97 s	5, 6, 6a, 13	12	31,46, CH ₂	3,36, t (7,5)	10, 10a, 13
13	125,34 C			13	39,99, CH ₂	3,84, m	10, 12, 15
14		10,46 s		14		6,32, s	
15	168,92 C			15	169,67, C		
16	131,73 C			16	130,85, C		
17	132,07 CH	6,80 m	15, 18	17	130,83, CH	6,33, q (9,2)	15, 18
18	13,47 CH ₃	1,89 d (6,5)	15, 17	18	13,93, CH ₃	1,67, d (8,6)	15, 17
19	11,86 CH ₃	1,96 s	15, 16	19	12,47, CH ₃	1,76, s	15, 16

Le composé **1** a été isolé sous forme d'huile d'orange et le pic d'ion pseudomoléculaire à *m/z* 356,1388 mesuré par HRMS est en accord avec la formule brute C₂₂H₁₈N₃O₂. Les analyses RMN 1D et 2D (**Tab 1**) indique la présence de deux fractions. La première fraction est une chaîne latérale insaturée (C-16 et C-17) ; les RMN ¹H, ¹³C et HSQC confirment la présence de deux méthyles avec les signaux à δ_H 1,89 ppm (d ; J = 6,5 Hz ; H-18 résonant avec le carbone C-18 à δ_C13,47 ppm) et à δ_H1,96 ppm (s, H-19 avec C-19 à δ_C 11,86 ppm), un CH avec le signal à δ_H 6,80 ppm (m, H-17 avec C-17 à δ_C 132,07 ppm) et deux carbones quaternaires, C-15 à δ_C168,32 ppm (CO) et C-16 à δ_C131,73 ppm. Le COSY ¹H-¹H

montre une corrélation entre H-17 et H-18 et le HMBC confirme la chaîne avec les connexions entre le H-17 et les carbones C-15 et C-18, H-18 et les carbones C-15 et C-17 et H-19 et les carbones C-15 et C-16. La deuxième est une fraction pyridoacridine tétracyclique avec trois systèmes de spins aromatiques ; les RMN ¹H, HSQC et COSY montrent un cycle benzénique ortho-disubstitué avec les signaux à $\delta_{\text{H}}8,42$ (d ; J= 8,5 Hz ; H-8), 7,80 (t ; J= 7,5 Hz ; H-9), 7,58 (t ; J= 7,9 Hz ; H-10) et 8,80 ppm (d ; J= 7,7 Hz ; H-11) confirmé par les corrélations en HMBC voir (**Tab1**), une pyridine trisubstituée avec les signaux à $\delta_{\text{H}}8,37$ (d ; J= 5,3 Hz ; H-1) et 9,04 ppm (d ; J= 5,1 Hz ; H-2), un singulier à $\delta_{\text{H}}7,55$ ppm correspond à un noyau aromatique. La présence du phénol est confirmé par le signal du carbone C-4 plus déblindé à $\delta_{\text{C}}146,98$ ppm et les corrélations en HMBC entre le proton H-5 et les carbones C-4, C-6 ($\delta_{\text{C}}118,12$ ppm) et C-6a ($\delta_{\text{C}}112,48$ ppm). Le singulier à $\delta_{\text{H}}6,97$ ppm est un proton aromatique corrélé en HMBC avec les carbones quaternaires C-5, C-6, C6a et C-13. Cette analyse des données RMN et une étude comparative avec la bibliographie (7) ont permis d'attribuer le composé à l'Arnoamice C (**1**).

Les Cystodytines **2a** et **2b** ont été obtenues sous forme de cristaux jaune. Une analyse spectroscopique par HRMS a montré un pic d'ion pseudomoléculaire à m/z 358,1543 pour **2a** et à m/z 390,1809 pour **2b** qui sont en accord respectivement avec les formules brutes C₂₂H₁₉N₃O₂(**2a**) et C₂₃H₂₃N₃O₃(**2b**). Les données RMN ¹H et ¹³C des deux composés montrent des signaux à $\delta_{\text{H}}8,32$ (d ; J= 10,6 Hz ; H-1), 7,96 (t, J= 9,3 Hz ; H-2), 7,86 (t, J= 9,2 Hz ; H-3), 8,58 (m, H-4), 8,60 (m, H-5), 9,25 (d, J= 6,9 Hz ; H-6) et 6,96 ppm (s, H-9) qui correspondent à des protons aromatiques et des carbones quaternaires à $\delta_{\text{C}}122,02$ (C-4a), 137,33 (C-4b), 147,00 (C-7a), 183,62 (C-8), 152,47 (C-10), 132,98 (C-10a), 118,27 (C-10b) et 145,38 ppm (C-11a) indiquent la présence de quatre benzénoïdes adjacents. Les connexions en COSY entre les protons H-5 et H-6, de H-1 à H-4 et les corrélations à longue portée par HMBC de H-1 et les carbones C-2, C-4a et C-11a, de H-5 et les carbones C-4b et 10b et H-6 et les carbones C-4, C-4b et C-7a confirment les quatre benzénoïdes adjacents qui correspondent au motif de la famille des cystodytins. Les spectres RMN ¹H et HSQC de **2a** confirme la présence d'une chaîne latérale insaturée à $\delta_{\text{C}}130,85$ et 130,83 ppm (C-16 et C-17 respectivement), incorporant une fonction amide donnant un signal à $\delta_{\text{C}}169,67$ ppm (C-15) et un signal à $\delta_{\text{H}}6,32$ ppm (H-14), deux méthyles attachés aux carbones C-16 et C-17 voir (**Tab2**) l'un à $\delta_{\text{H}}1,76$ ppm (s, H-19) résonant à $\delta_{\text{C}}12,47$ ppm (C-19) et l'autre à $\delta_{\text{H}}1,67$ ppm (d, J= 8,6 Hz, H-18) résonant à $\delta_{\text{C}}13,93$ ppm (C-18) et corrélé en COSY avec le signal à $\delta_{\text{H}}6,31$ ppm (q ; J= 9,2 Hz ; H-17) et deux méthylènes vicinaux à $\delta_{\text{H}}3,36$ (t ; J= 7,5 Hz ; H-12) et 3,84 ppm (m ; H-13). La connexion en HMBC entre le proton H-13 et le carbone C-15 d'une part et celles entre H-12 et C-10 et entre H-9 et C-12 et C-10 confirme que les deux méthylènes sont liés à la fonction amide et au noyau tétracyclique aromatique. Une comparaison des spectres RMN et Masse des composés **2a** et **2b** montre que la liaison double en **2a** a subi une hydrogénation et la présence d'un méthoxy à $\delta_{\text{H}}3,51$ ppm (s ; MeO) en **2b**. Le composé **2a** correspond à une Cystodytine B isolé par Junichi Kobayashi et al d'un tunicier d'Okinawa possédant une puissante activité antinéoplasique et de libération de Ca²⁺(8). L'ensemble des données spectrales (SM, SMHR, RMN) et des chromatogrammes obtenus par CLHP, couplé aux données de la bibliographie, notamment celles relatives à la famille des alkaloïdes pyridoacridines nous a permis de trouver la structure du composé **2b**.

Partie expérimentale

- Tous les solvants et réactifs utilisés dans ce travail (dichlorométhane, méthanol, eau, acétonitrile (ACN), acide formique (AF)) sont de pureté analytique et de qualité HPLC (Merck).
- Les colonnes analytiques utilisées sont: Macherey-Nagel Nucleodur Sphinx RP de phase propylphényl-C18 (4,6 x 100 mm, 5 μm).
- Les chromatographies liquides à haute performance (HPLC) semi préparatives en phase inverse ont été effectuées avec une colonne Macherey-Nagel Nucleodur sphinx RP C18, (10mm x 250, 5 μm).
- La chromatographie liquide sous vide en phase inverse a été réalisée sur gel de silice greffée C₁₈ (60-80 μm , Macherey-Nagel), utilisée dans des cartouches SPE reliées à un manifold soumis à une pression obtenue grâce à une pompe reliée au système.
- Les spectres RMN ¹H et ¹³C ont été enregistrés sur deux spectromètres Bruker Avance 400 MHz et 500 MHz. Les déplacements chimiques des protons et des carbones ont été exprimés en partie par million (ppm).
- Les spectres de masse basse et haute résolution ont été réalisés respectivement avec un Thermo LCQ Advantage et un Bruker Daltons.

Matériel biologique

L'Ascidie (**figure 1**) a été échantillonnée en Février 2019 par plongée sous-marine à 4m de profondeur au mois d'Août 2016. Le matériel biologique est lavé afin d'éliminer les sels, le sable, et autres débris animaux ou végétaux avant d'être congelé à -18°C.



Figure 1 : Photographie de l'Ascidie.

Extraction et isolement

Trois cents quatrevingt (380) g de l'Ascidie (w.w) ont été extraits (macération) par éthanol pour donner 19,32 g d'extrait brut organique. Ce dernier a été fractionné par chromatographie liquide sous-vide en phase inverse RP-C₁₈ (élution avec un gradient de polarité décroissante de H₂O/MeOH de 1:0 à 0:1 (V/V) puis de MeOH/CH₂Cl₂ de 1:0 à 0:1 (V/V)). La fraction H₂O/MeOH 1:3 (119 mg) a été purifiée par HPLC semi-préparative (colonne semi préparative Machery Nagel Nucleodur sphinx RP C₁₈, 250 x 10mm. Gradient H₂O/ACN/AF de 85:15:0,1 à 0:100:0,1 (V/V/V) en 45 minutes, débit 3 mL/min) pour donner le composé **1** (4,5mg ; 0,0011%), le composé **2a** (5,1 mg ; 0,0012%) et le composé **2b** (1,9 mg ; 0,0005%). Ces composés ont été identifiés par comparaison des données spectroscopiques (RMN 1D et 2D, MS) avec celles issues de la bibliographie [7, 8].

L'Arnoamine C (**1**) : a été isolé sous forme d'huile d'orange ; ces données RMN ¹H (en ppm) sont : 8,37 (H-1, d, J= 5,3 Hz) ; 9,04 (H-2, d, J= 5,1 Hz) ; 7,55 (H-5, s) ; 8,42 (H-8, d, J= 8,5 Hz) ; 7,80 (H-9, t, J= 7,5 Hz) ; 7,58 (H-10, t, J= 7,9 Hz) ; 8,80 (H-11, d, J= 7,7 Hz) ; 6,97 (H-12, s) ; 10,46 (H-14, s) ; 6,80 (H-17, m) ; 1,89 (H-18, d, J= 6,5 Hz) ; 1,96 (H-19, s). Son spectre de masse HRMS montre un pic à m/z 356,1388 [M+H] qui correspond à la formule brute C₂₂H₁₈N₃O₂, la valeur calculée est

Les cystodytins **2a** et **2b** ont été isolés sous forme de cristaux jaunes, leur spectre HRMN montre à m/z 358,1543 et 390,1809 [M+H] qui correspondent aux formules brutes C₂₂H₁₉N₃O₂ (**2a**) et C₂₃H₂₃N₃O₃ (**2b**). Les valeurs calculées sont

Tableau 2: Signaux caractéristiques RMN ¹H des composés **2a** et **2b**

Position	2a / 2b
1	8,32 / 7,91
2	7,96 / 7,82
3	7,86 / 7,10
4	8,58 / 8,33
5	8,60 / 8,58
6	9,25 / 9,25
9	6,96 / 6,35
12	3,36 / 5,40
13a	3,84 / 3,86 / 3,99
14	6,32 / 6,21
17	6,33 /
18	1,67 /
19	1,76 / 1,24
MeO	/ 3,53

Remerciements

Ce travail est le fruit d'une collaboration entre le Groupe de Recherche sur les Substances Bioactives du département de Chimie de la FST/UCAD et le laboratoire PNM (Produits Naturels Marins) de l'Institut de Chimie de Nice. Nous remercions les plongeurs de Soumbédioum et Rufisque particulièrement Mamadou Diallo pour l'approvisionnement du matériel biologique.

Référence

1. D. Leung –Tack, No spécial "Environnement Africain" p.118, Edit. J. M. Kornprobst, Enda T. M. , Dakar, 198.
2. R. SOURIE, Mémoires de l'IFAN, 1954, 38
3. Lederer, E.; Tessier, G.; Hutterer, C. Bull. Soc. Chim. Fr. 1940, 7, 608.
4. Schmitz, F. J.; Agarwal, S. K.; Gunasekera, S. P.; Schmidt, P. G.; Shoolery, J. N. J. Am. Chem. Soc. 1983, 105, 4835–4836.
5. McDonald, L. A.; Eldridge, G. S.; Barrows, L. R.; Ireland, C. M. *J. Med. Chem.* **1994**, 37, 3819.
6. F.J. Schmitz, F.S. DeGuzman, M.B. Hossain, and D. van der Helm, *J. Org. Chem.*, 56, 804 (1991), and references cited therein.
7. Nataly Bontemps, Florence Gattacceca, Christophe Long, Olivier P. Thomas, and Bernard Banaigs, doi.org/10.1021/np400284z | *J. Nat. Prod.* 2013, 76, 1801–18058. Jun'ichi Kobayashi,* Jie-fei Cheng, 1 Markus R. Wálchli, 15 Hideshi Nakamura, 1 Yoshimasa Hirata, 1c Takuma Sasaki, 16 and Yasushi Ohizumi 1 ; *J. Org. Chem.* 1988, 53, 1800-1804

Les endoperoxydes comme substitués de [*O]O₂ pour la synthèse de molécules complexes marquées à l'oxygène par génération ex situ.

Marie-France Bakai¹, Philippe Hermange², Magali Szlosek², Patrick Toullec², Eric Fouquet²

¹Laboratoire de Chimie Organique et Sciences de l'Environnement (LaCOSE), Faculté des Sciences et Techniques, Université de Kara, BP 404, Togo

²Institut des Sciences Moléculaires, groupe CSH Université de Bordeaux, 351 cours de la Libération 33405 Talence, France

* Auteur correspondant ; E-mail : marie-france.bakai@live.fr

Résumé :

Le marquage radio-isotopique est une méthode de choix pour élucider les mécanismes moléculaires, notamment pour les recherches biologiques. L'oxygène joue un rôle clé dans plusieurs groupes fonctionnels, et son marquage isotopique s'avère souvent déterminant pour la compréhension des mécanismes. Parmi les différentes sources d'oxygène isotopique, le dioxygène a été utilisée avec succès pour la production d'une grande variété de produits naturels et de médicaments, et permettrait d'introduire avantageusement deux atomes d'oxygène marqués en même temps. L'objectif de notre étude est de mettre en oeuvre une nouvelle méthode de génération d'O₂ marqué et d'en utiliser des quantités stoechiométriques pour synthétiser des molécules radiomarquées.

Ainsi, le 9,10-diphénylanthracène endoperoxide, marqué à l'¹⁸O et à l'¹⁷O, a été synthétisé avec un rendement de 98 %. L'analyse par spectrométrie de masse a permis de déterminer le taux d'enrichissement isotopique des endoperoxydes synthétisés. Ces endoperoxydes ont été utilisés comme source d'O₂ marqué afin de synthétiser différentes molécules telles que l'ascaridole, la 5-hydroxy-2(5H)-furanone et la 1,4-naphtoquinone avec de très bon rendements. Les analyses RMN et spectrométrie de masse ont prouvé l'enrichissement isotopique et ont permis d'élucider certaines mécanismes. Ces résultats sont encourageants pour la synthèse radiomarquée de molécules complexes.

Mots clés : oxygène singulet, photosensibilisateur, RMN, spectrométrie de masse

Abstract :

Radioisotope labeling is a method of choice for elucidating molecular mechanisms, especially in biological research. Oxygen plays a key role in several functional groups, and its isotopic labeling is often decisive for the understanding of the mechanisms. Among the different sources of isotopic oxygen, oxygen has been successfully used for the production of a wide variety of natural products and drugs, and would allow the advantageous introduction of two labeled oxygen atoms at the same time. The objective of our study is to implement a new method for generating labeled O₂ and to use stoichiometric amounts of it to synthesize radiolabeled molecules. Thus, 9,10-diphenylanthracene endoperoxide, labeled with ¹⁸O and ¹⁷O, was synthesized in 98 % yield. Mass spectrometry analysis was used to determine the isotopic enrichment of the synthesized endoperoxides. These endoperoxides were used as a source of labelled O₂ to synthesize different molecules such as ascaridole, 5-hydroxy-2(5H)-furanone and 1,4-naphthoquinone in very good yields. NMR and mass spectrometry analyses proved the isotopic enrichment and allowed to elucidate some mechanisms. These results are encouraging for the radiolabelled synthesis of complex molecules.

Key words : singlet oxygen, photosensitizer, NMR, mass spectrometry

1- Introduction

Malgré les problèmes pratiques et de sécurité associés, le marquage radio-isotopique est resté pendant des décennies la méthode de choix pour élucider les mécanismes moléculaires, en particulier pour les recherches biologiques [1]. Cependant, les récents développements techniques de la spectroscopie RMN et de la spectrométrie de masse [2] ont permis l'utilisation d'isotopes stables pratiques pour de nombreuses applications, notamment la détermination du métabolisme des plantes [3], les essais de pharmacologie clinique [4], ou les études mécanistiques en chimie organique/organométallique [5]. Parmi les différents éléments présents dans les molécules organiques et biologiques, l'oxygène joue un rôle clé dans de nombreux groupes fonctionnels, et son marquage isotopique s'avère souvent déterminant pour la compréhension des mécanismes. En effet, [¹⁸O] peut être facilement différencié par analyse de masse du prédominant [¹⁶O] (99,759%), et les récents progrès en instrumentation RMN permettent une

détection efficace des déplacements chimiques de [¹⁷O] (-30 à +1000 ppm) [6]. Cependant, en raison de l'abondance naturelle extrêmement faible de [¹⁸O] et [¹⁷O] (0,204% et 0,037%, respectivement), l'utilisation de composés isotopiquement enrichis est essentielle. Dans ce contexte, les méthodologies de synthèse pour l'incorporation d'oxygène marqué (*O) ont été largement étudiées, mais la plupart s'appuient sur des sources d'oxygène coûteuses, requièrent la manipulation de gaz qui est assez compliqué et les manipulations doivent se faire dans des conditions réactionnelles difficiles. C'est pour palier à ces contraintes que nous nous sommes intéressés à l'oxygène dans son état singulet pour permettre l'incorporation d'oxygène marqué lors de la synthèse de produits naturels ou de potentiels médicaments.

L'objectif général de notre étude était de mettre en place une nouvelle méthode permettant de générer de l'oxygène et de l'utiliser en quantité stoechiométrique et d'appliquer cette nouvelle méthode pour synthétiser des molécules d'intérêt isotopiquement marquée.

2- Matériel et méthodes

❖ Synthèse du précurseur à oxygène

L'endopéroxyde de 9,10-diphénylanthracène, a été choisi comme source d'oxygène car il est simple à synthétiser avec l'obtention de très bon rendements, stable à température ambiante et il permet de libérer de l'oxygène à son état singulet lorsqu'on le chauffe. C'est un solide qui est facile à manipuler contrairement au gaz et permet de contrôler la quantité d'oxygène que l'on voudra libérer. Il a été synthétisé par photochimie en utilisant le bleu de méthylène comme photosensibilisateur et une lampe LED de 150W de puissance et émettant à 660 nm de lumière rouge. Le solvant utilisé était le dichlorométhane et, pour obtenir ce précurseur radiomarqué, le milieu réactionnel était mis en contact du gaz commercial [¹⁸O] et [¹⁷O]. Ainsi, deux précurseurs ont été préparés : un marqué à l'oxygène 18 et l'autre marqué à l'oxygène 17 selon le schéma réactionnel suivant :

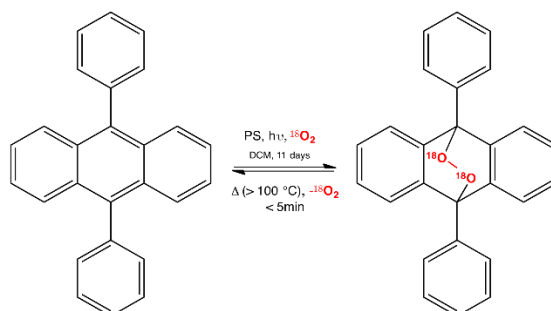


Figure 1 : Synthèse de l'endopéroxyde de 9,10-diphénylanthracène radiomarqué

❖ Utilisation d'un système double chambre pour la synthèse de molécules radiomarquées

Afin d'utiliser des quantités stoechiométriques de notre oxygène marqué, un système innovant a été mis en place pour réaliser nos synthèses organiques. Une verrerie spécifique que nous avons appelé système double chambre a été produit par un verrier. C'est un milieu que l'on peut hermétiquement fermer pour éviter les fuites de gaz, étant donné que l'oxygène est notre principal réactif. Dans la chambre 1 du système est installé la masse souhaité de notre précurseur solide d'endopéroxyde de 9,10-diphénylanthracène. Dans la chambre 2, on installe le réactif que l'on veut faire réagir avec l'oxygène et un photosensibilisateur, puisque nos réactions se font toutes par photochimie, sous action de la lumière. Pour initier la réaction, on chauffe la chambre 1 à une température supérieure à 100°C : l'endopéroxyde de 9,10-diphénylanthracène fond et on observe un dégagement gazeux d'oxygène qui est à son état singulet. L'oxygène ainsi libéré circule dans le système, en se désexcitant retrouvant son état naturel triplet, et arrive dans la chambre 2 où se situe le réactif et le photosensibilisateur. Cette chambre 2 est positionné en face d'une lampe LED de longueur d'onde adaptée pour que la réaction par photochimie puisse se faire.

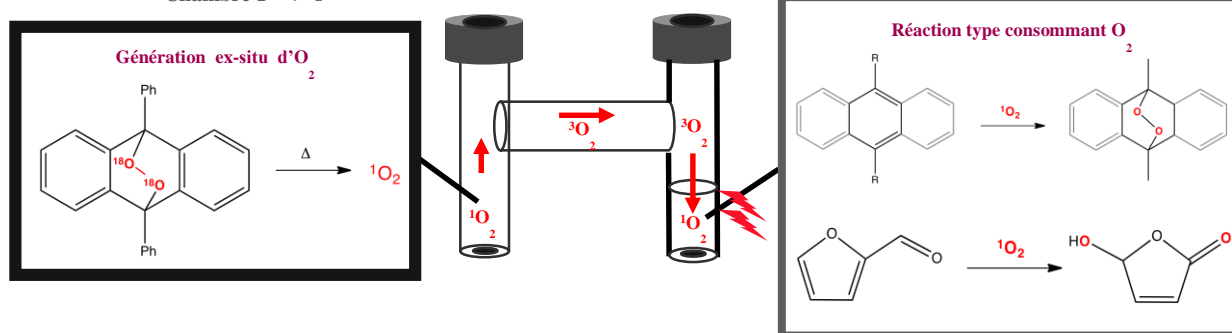


Figure 2 : Système double chambre pour la synthèse de molécules radiomarquées

❖ Purification des molécules synthétisées

Les molécules synthétisées ont été purifiées en réalisant une chromatographie sur colonne soit sur gel d'alumine ou sur gel de silice. Les principaux éluants utilisés ont été le dichlorométhane, le cyclohexane, le méthanol et l'acétate d'éthyle. Ces solvants ont pu être employés seuls ou en mélange afin de réaliser un gradient de polarité et permettre la séparation et l'isolement de la molécule souhaitée qui a ensuite été analysée.

❖ Analyse des molécules obtenues

□ RMN

L'analyse par RMN du proton ^1H et du carbone ^{13}C des molécules a été réalisée sur un spectroscope RMN Bruker Avance III 300 MHz avec sonde directe 5mm BBFO.

Pour l'analyse des molécules marquées à ^{17}O , en plus de la RMN du proton et du carbone, la RMN de ^{17}O a été réalisée sur un spectroscope RMN Bruker Avance III 600 MHz avec sonde Inverse 5 mm type BBI ($^1\text{H}/^{15}\text{N}-^{31}\text{P}/^2\text{H}$) avec gradients Z et ATM destinée à la RMN liquide.

L'interprétation des spectres RMN a été réalisée avec le logiciel MestRenova.

□ Spectrométrie de masse

Pour vérifier que les molécules synthétisées sont bien radiomarquées et pour déterminer le pourcentage d'enrichissement isotopique, une analyse par spectrométrie de masse a été réalisée. L'analyse spectroscopique des produits obtenus a été effectuée au sein de la plateforme analytique CESAMO de l'Institut des Sciences Moléculaires de l'Université de Bordeaux. Le chromatographe est un GC/MS ISQ (ThermoFisher), spectromètre de masse couplé à un appareil de chromatographie en phase gazeuse équipés d'un analyseur quadripolaire. L'introduction de l'échantillon a été une introduction directe pour une méthode d'analyse électrospray-ESI.

3- Résultats et discussion

❖ Synthèse de l'endopéroxyde de 9,10-diphénylanthracène

L'endopéroxyde de 9,10-diphénylanthracène marqué à ^{18}O a été synthétisé en faisant réagir le 9,10-diphénylanthracène de manière stoechiométrique avec de $^{18}\text{O}_2$ dans du dichlorométhane. La réaction photochimique s'est déroulée sous irradiation lumineuse pendant 11 jours. Le produit final, après purification, a été obtenu sous la forme d'une poudre blanche-jaune avec un rendement de 98% (14,419

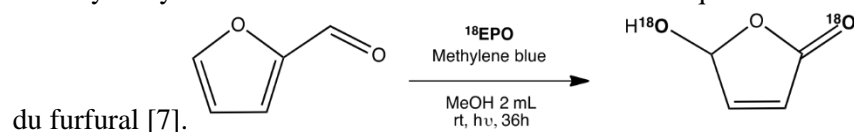
g). Les analyses par spectrométrie de masse ont montré un enrichissement isotopique en ^{18}O de 84% pour les deux oxygènes présents dans la molécule.

L'endopéroxyde de 9,10-diphénylanthracène marqué à ^{17}O a été synthétisé dans les mêmes conditions réactionnelles que précédemment. Le produit après purification par chromatographie sur colonne en gel d'alumine a été obtenu avec un rendement de 99% (14,690 g). L'enrichissement isotopique en ^{17}O , après analyse par spectrométrie de masse, est de 82 % pour les deux oxygènes présents dans la molécule.

La synthèse s'avère donc très efficace et le marquage isotopique fonctionne. Cette molécule, connue comme étant une source d'oxygène à l'état singulet [7] servira à marquer des molécules d'intérêts lors de réactions de cycloaddition ou de réactions d'oxydation.

❖ Synthèse de la 5-hydroxyfuranone

La 5-hydroxyfuranone a été une autre molécule d'intérêt que nous avons essayé de synthétiser à partir



La synthèse a été effectuée afin d'obtenir la molécule souhaitée marquée avec l' ^{18}O . L'endopéroxyde de 9,10-diphénylanthracène précédemment synthétisé a été utilisé comme source d'oxygène marqué et la réaction s'est déroulée dans le système double chambre sous irradiation lumineuse. Le produit final a été obtenu avec un rendement de 93 % selon les conditions suivantes (Tableau 1) :

Tableau 1 : Conditions opératoires de synthèse de la 5-hydroxyfuranone

	M (g.mol ⁻¹)	m (mg)	n (mmol)	eq	V (mL)	Yield (%)
Furfural	96,09	28,83	0,3	1	0,025	-
^{18}EPO	366,43	164,89	0,45	1,5	-	-
Methylene blue	319,85	4,80	0,015	0,05	-	-
MeOH	-	-	-	-	2	-
5-hydroxy-2(5H)-furanone	102	28,4	0,28	-	-	93

L'analyse par spectrométrie de masse confirme un enrichissement isotopique mais un seul atome d'oxygène est radiomarqué (figure 3).

QEXACTIVE-111021-MFB-112 #92-111 RT: 1.30-1.55 AV: 10 NL: 3.63E8
T: FTMS - p ESI Full ms [50.0000-750.0000]



La 5-hydroxyfuranone de formule brute C₄H₃O₃ a une masse molaire de 99 g/mol avec l'isotope naturel abondant de l'oxygène. Sur le spectre de masse, on voit que le composé majoritaire est un composé avec une masse molaire de 101 g/mol ce qui est en accord avec la présence d'un atome d'¹⁸O car : (12x4) + 3 + (2x16) + 18 = 101 g/mol. Ceci prouve bien l'efficacité de notre système novateur double chambre pour effectuer des réactions de cycloadditions par photochimie. Cependant, cette découverte est en désaccord avec le mécanisme de synthèse décrit dans la littérature (figure 4) [8] car, normalement, deux atomes d'oxygène devraient être marqués.

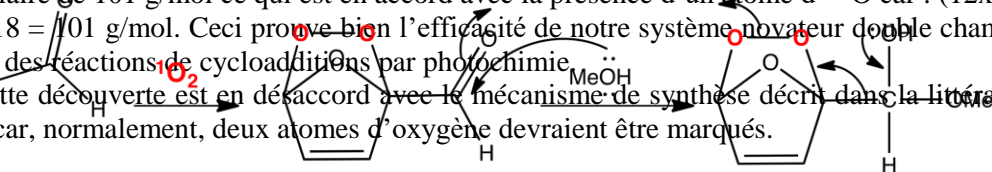


Figure 4 : Mécanisme de synthèse de la 5-hydroxyfuranone à partir du furfural.

Pour essayer de confirmer cette observation, la synthèse de la 5-hydroxyfuranone marquée à l'¹⁷O a été effectuée, dans les mêmes conditions opératoires que précédemment, afin de pouvoir effectuer le spectre RMN de l'oxygène du produit obtenu. Le produit final a été obtenu avec un rendement de 100 % et un enrichissement isotopique d'un seul atome d'oxygène de 84 %. Le spectre RMN de l'¹⁷O de la molécule produite a été effectué (figure 5).

Figure 5 : Spectre RMN ¹⁷O de la 5-hydroxyfuranone

Sur le spectre RMN, nous observons 4 pics différents indiquant 4 atomes d'¹⁷O. Après avoir effectué des recherches bibliographiques et dans des tables RMN, nous avons pu conclure qu'en réalité, notre molécule synthétisée est en équilibre chimique selon le schéma suivant (figure 6) :

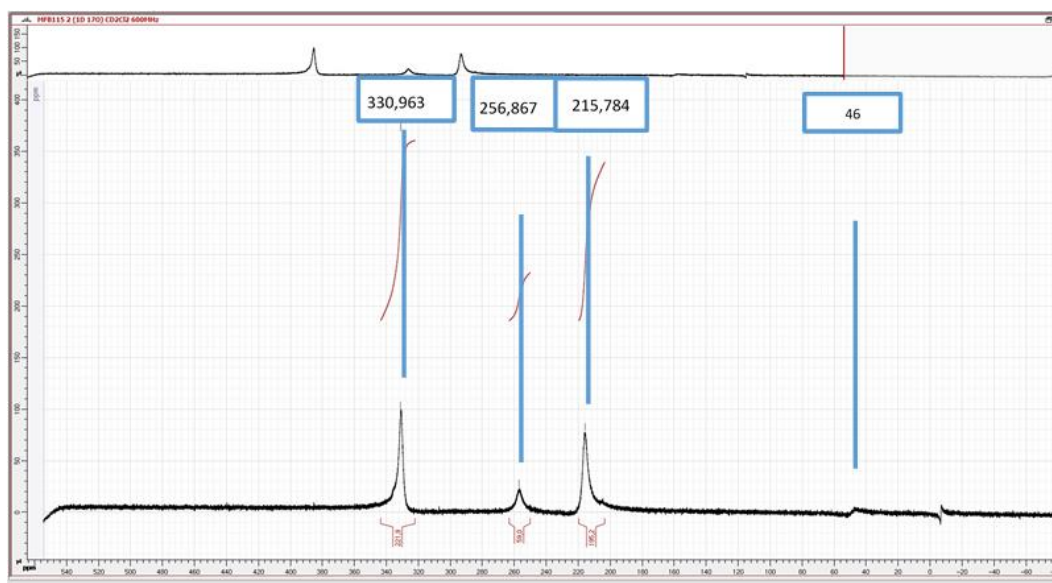


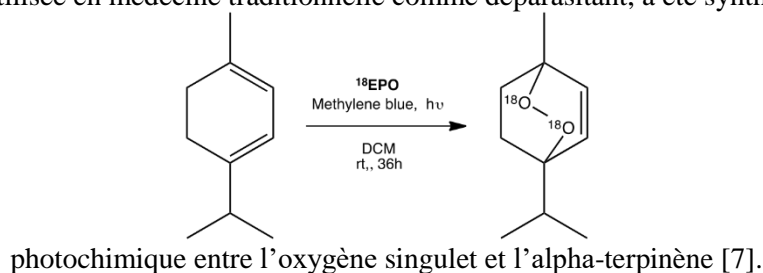
Figure 6 : Équilibre chimique de la 5-hydroxyfuranone

Le pic à 330,963 correspondrait à l'oxygène du carbonyle de la lactone qui serait en équilibre avec sa forme ouverte qui est un alcène cis. L'alcène cis, en s'isomérisant avec sa forme trans donne les pics à 256,867 ppm et 46 ppm en très faible quantité puisque l'équilibre avec la forme ouverte est plutôt favorable à la lactone qui est prédominante par rapport à la forme ouverte. L'alcène cis subit probablement une protonie ce qui déplace l'oxygène marquée au niveau du groupement hydroxyde de l'acide carboxylique qui réagit pour reformer la lactone, avec cette fois-ci, l'oxygène lactonique marqué, d'où le pic à 215,784 ppm.

Ces analyses ont permis de comprendre les équilibres qui s'effectuent au niveau de la molécule formée et nous indique que le mécanisme décrit dans la littérature n'est pas exactement ce qui se passe, puisqu'à aucun moment, l'oxygène du groupement hydroxyde de la 5-hydroxyfuranone n'est marqué. Cette synthèse a permis d'apporter un plus quand à l'éluoation mécanistique qui reste à compléter et on a pu obtenir la 5-hydroxyfuranone radiomarkée ce qui est intéressant puisque cette molécule est un synthon clé pour la synthèse totale de produits naturels et de composés biologiquement actifs.

❖ Synthèse de l'ascaridole

L'ascaridole, molécule naturelle retrouvée notamment dans l'huile essentielle de *Chenopodium Ambrosioides*, utilisée en médecine traditionnelle comme déparasitant, a été synthétisé par réaction



Les conditions de synthèse sont renseignées dans le tableau 2 :

Tableau 2 : Conditions de synthèse de l'ascaridole marquée à l'oxygène 18.

	M (g.mol ⁻¹)	m (mg)	n (mmol)	eq	V (mL)	Yield (%)
□□terpinène	136,24	45,31	0,3	1	0,055	-
¹⁸ EPO	366,43	164,89	0,45	1,5	-	-
Methylene blue	319,85	4,80	0,015	0,05	-	-
MeOH	-	-	-	-	2	-
Ascaridole	172	46,5	0,27	-	-	90

La réaction a eut lieu pendant 36 heures sous irradiation lumineuse rouge et le produit final a été obtenu, après purification par chromatographie sur colonne avec gel d'alumine, avec un rendement de 90 %. L'enrichissement isotopique avec présence de deux atomes d' ¹⁸O est de 50 %. L'expérience a été réalisée dans les mêmes conditions mais avec marquage à l' ¹⁷O et le rendement de la réaction était de 70 % et un enrichissement isotopique avec deux atomes d'oxygènes marqués de 42 %.

Le procédé de la réaction est donc efficace et il serait envisageable de suivre le métabolisme de cette molécule grâce à la présence de deux atomes d'oxygène isotopiquement marqués.

4- Conclusion

A travers cette étude, nous avons pu synthétiser l'endopéroxyde de 9,10-diphénylanthracène marqué aussi avec l' ¹⁷O que l' ¹⁸O, et qui a servit de source d'oxygène singulet, très réactif, pour synthétiser

des molécules d'intérêt par photochimie. L'utilisation d'un système double chambre, système novateur qui permet d'avoir la source d'oxygène et le réactif avec le photosensibilisateur dans deux compartiments séparés mais dans un milieu hermétiquement fermé s'est avéré efficace. Plusieurs molécules ont pu être synthétisés avec des rendement très intéressant et avec un marquage effectif des atomes d'oxygène de la molécule. On a pu apporter des points nouveaux sur un mécanisme réactionnel qui n'est cependant pas encore élucidé. Nous ambitionnons synthétiser des molécules complexes bio actives et isotopiquement marquées, ce qui permettrait de comprendre le métabolisme de ces molécules d'intérêt.

Bibliographie

- [1] *Radioisotopes in Biology: A Practical Approach*, Second edition; Slater, R. J., Ed; Oxford University Press: Oxford, **2002**, [130–263](#).
- [2] Lehmann, W. D. *Mass Spectrom. Rev.*, **2017**, *36*, 58.
- [3] Deborde, C.; Moing, A.; Roch, L.; Jacob, D.; Rolin, D.; Giraudeau, P. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.*, **2017**, *102-103*, 61.
- [4] Schellekens, R. C. A.; Stellaard, F.; Woerdenbag, H. J.; Frijlink, H.W.; Kosterink, J. G. W. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **2011**, *72*, 879.
- [5] Gómez-Gallego, M.; Sierra, M. *Chem. Rev.*, **2011**, *111*, 4857.
- [6] ¹⁷O-enriched methods. In *¹⁷O NMR Spectroscopy in Organic Chemistry*, Boykin, D. W., Ed; CRC Press: Boston, 1991, 21–38.
- [7] Carney et al., *Synthesys*, **2012**, *44*, 2560–2566
- [8] Castiglione et al., *Annu. Rep. NMR Spectrosc.* **2015**, *45*, 143–195

Activités antiradicalaires des extraits de feuilles d'*Odontonema Strictum* (acanthaceae)

Issaka Konane¹, Moumouni Koala^{1,2*}, Kini B. Félix², Eloi Palé¹

¹Laboratoire de Chimie organique et de Physique Appliquées (L.C.O.P.A), Université Joseph Ki-Zerbo, Ouagadougou, Burkina Faso

² Institut de Recherche en Sciences de la Santé (IRSS)/CNRST : Ouagadougou, Burkina Faso

*Mail : issakakonane9@gmail.com

RESUME

La prédominance des maladies cardiovasculaires, particulièrement l'hypertension, demeure très préoccupante en Afrique subsaharienne et leur prise en charge est très coûteuse ^[1]. Au Burkina Faso, les feuilles d'*Odontonema Strictum* sont utilisées par les tradipraticiens pour la prise en charge de l'hypertension. Des études ont démontré que les molécules anti-hypertensives sont majoritairement des polyphénols ^[2]. Ainsi les teneurs en composés phénoliques et les activités antiradicalaires des différents extraits des feuilles d'*Odontonema Strictum* ont été évaluées respectivement par les méthodes RFC et DPPH ^[3]. Les résultats obtenus révèlent que l'extrait à l'acétone-eau-acide chlorhydrique renferme plus de polyphénols (97,547 mg EAG/g) que l'extrait éthanol-acide chlorhydrique (1 %) (16,666 mg EAG/g). L'extrait l'éthanol-acidifié (1 %) renferme plus de flavonoïdes que l'extrait acétone-eau-acidifié soit respectivement 128,783 ± 0,220 mg EQ/g et 98,681 ± 0,105 mg EQ/g. L'extrait à l'acétone-eau-acidifié (264,446 ± 0,158 mg ET/g) contient plus d'antioxydants que l'extrait à l'éthanol-acidifié (1 %) (137,730 ± 0,077 mg ET/g). Avec une IC₅₀ égale à 0,06 mg/ml cet extrait est aussi actif que le standard trolox utilisé (IC₅₀ = 0,05 mg/ml). Les extraits étudiés contiennent composés phénoliques particulièrement les flavonoïdes que nous envisageons isoler, caractériser par la RMN, la CLHP/SM/SM.

Mots clés : teneurs en flavonoïdes, teneurs en antioxydants, IC₅₀

Anti-radical activities of *Odontonema Strictum* (acanthaceae) leaf extracts

Abstract

The prevalence of cardiovascular disease, particularly hypertension, remains a major concern in sub-Saharan Africa and is very costly to manage ^[1]. In Burkina Faso, *Odontonema Strictum* leaves are used by traditional practitioners for the management of hypertension. Studies have shown that the anti-hypertensive molecules are mainly polyphenols ^[2]. Thus the contents in phenolic compounds and the antiradical activities of the different extracts of *Odontonema Strictum* leaves have been evaluated respectively by the RFC and DPPH methods ^[3]. The results obtained reveal that the acetone-water hydrochloric acid extract contains more polyphenols (97.547 mg GAE/g) than the ethanol-hydrochloric acid extract (1%) (16.666 mg GAE/g). The ethanol-acidified (1%) extract contains more flavonoids than the acetone-water-acidified extract 128.783 ± 0.220 mg QE/g and 98.681 ± 0.105 mg QE/g, respectively. The acetone-water-acidified extract (264.446 ± 0.158 mg TE/g) contains more antioxidants than the ethanol-acidified (1%) extract (137.730 ± 0.077 mg TE/g). With an IC₅₀ of 0,06 mg/ml this extract is as active as the trolox standard used (IC₅₀ = 0,05 mg/ml). The extracts studied contain phenolic compounds, particularly flavonoids that we plan to isolate, characterized by NMR, HPLC/MS/MS.

Keywords : flavonoid content, antioxidant content, IC₅₀

1. Introduction

Depuis des millénaires, les plantes ont toujours été une source principale de médicaments. Aujourd'hui encore, en raison de la rareté et de l'accessibilité onéreuse des centres de santé, près de 80 % de la population dans les pays en voie de développement ont recours à la médecine traditionnelle pour leurs soins primaires ^[1]. Le continent africain regorge diverses espèces végétales avec un nombre très élevé de plantes utilisées pour des soins thérapeutiques^[4]. Plus de 25% des médicaments produits par l'industrie pharmaceutique proviennent directement ou indirectement des plantes^[5,6]. L'intérêt porté par l'industrie pharmaceutique aux plantes est dû au fait que celles-ci renferment des molécules variées permettant aux plantes d'assurer leur croissance et leur protection. Ce sont des composés tels que les terpènes, les alcaloïdes, les polyphénols. Cette famille phytochimique est également connue pour posséder plusieurs propriétés biologiques, notamment antihypertensive ^[7] anti-VIH et antispasmodique ^[8], anticancéreuses ^[9], antifongiques ^[10] et antioxydantes. Cette étude s'intéresse actuellement à l'évaluation des substances phytochimiques bénéfiques pour la santé ^[11] et les teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes des extraits de feuilles d'*Odontonema strictum* ont été

déterminées. Les activités antioxydantes et antiradicalaires de ces extraits ont été également déterminées à l'aide de l'analyse des radicaux DPPH d'essai.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé pour réaliser ce travail est constitué de feuilles d'*Odontonema strictum*. Ces feuilles ont été récoltées dans le jardin botanique de l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé (IRSS) de Ouagadougou puis séchées à l'abri du soleil en salle. Les feuilles sèches sont finement broyées et la poudre obtenue est utilisée pour les différentes extractions.

2.2. Extraction

Deux extraits ont été obtenus à partir des systèmes acétone-eau-acide chlorhydrique (70 : 29,5 : 0,5 ; v/v/v) et éthanol-acide chlorhydrique (1 %) en utilisant respectivement 2g de poudre de feuilles d'*Odontonema strictum*. L'ensemble est mis en macération pendant 24 heures puis filtré sous vide, l'opération est répétée deux fois. Les filtrats obtenus ont été rassemblés et conservés à 4°C au réfrigérateur.

2.3. Test de caractérisation physicochimiques des flavonoïdes

La mise évidence des flavonoïdes dans les extraits bruts des feuilles d'*Odontonema strictum*, a été réalisée par chromatographie sur couche mince en utilisant comme phase mobile le système de solvants acétate d'éthyle-méthanol-eau-hexane dans les proportions (11,9 : 1,6 : 1,4 : 3,5 v/v). La plaque est ensuite chauffée à 110°C après pulvérisation du réactif de NEU (2-aminodiphénylborate et polyéthylène glycol) puis exposée aux rayonnements UV à 366nm.

2.4. Dosage des composés phénoliques totaux

La quantification des composés phénoliques de notre extrait est réalisée en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu ^[1]. En effet, 500µL de chacun des extraits obtenu ou de l'acide gallique (standard) sont mélangés avec 500µL du réactif de folin-ciocalteu (RFC). Le mélange est agité à l'aide d'un vortex et laissé à la température ambiante pendant 8 minutes (min). Ensuite, on y ajoute 1mL d'une solution de Na₂CO₃ (7,5%), le mélange obtenu est agité. Après 30min d'incubation à 37°C, les absorbances sont mesurées à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre de marque Agilent 8453 monocuve, contre un blanc. Les résultats sont obtenus en utilisant l'équation de la courbe étalon ($y = 1,5439x + 0,0555$, $R^2 = 0,9925$) et les teneurs sont exprimées en équivalent d'acide gallique.

2.5. Dosage des flavonoïdes totaux

Pour évaluer la teneur en flavonoïdes de nos extraits, la méthode de Zishen et col ^[12] a été utilisée. En effet, 250µL de chaque extrait ou de la quercétine (standard, 500µL) sont ajoutés à 250µL de son solvant d'extraction puis on effectue une dilution en cascade. Ensuite, on ajoute 1mL d'eau bi-distillée suivi de 75µL de NaNO₂ à 5% (m/v). 5 minutes après, on y ajoute 75µL de AlCl₃ 10% (m/v). Après 6 minutes d'incubation, 750µL de NaOH (1N) sont ajoutés et la lecture l'absorbance du mélange de couleur rosâtre est effectuée à 510 nm avec un spectrophotomètre Agilent 8453 à monocuve contre un blanc. Les résultats sont obtenus en utilisant l'équation de la courbe étalon ($y = 0,3631x + 0,0905$; $R^2 = 0,9926$) et les teneurs sont exprimées en équivalent de quercétine.

1.1. Teneurs en antioxydants par la méthode au DPPH

Cette méthode permet d'évaluer les propriétés antioxydantes d'un composé ^[13]. En effet, le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) est un radical artificiel et stable centré sur l'azote. La solution DPPH de coloration bleue présente la particularité d'absorber dans le domaine du visible. Cette méthode a consisté à mélanger 50 µL des différents extraits convenablement dilué ou du trolox (standard) avec 200µL du réactif DPPH. Le mélange obtenu, est agité à l'aide d'un vortex et laissé à incubation à la température ambiante pendant 10 min, puis les absorbances sont lues à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre de marque Agilent 8453 à monocuve contre un blanc. Les résultats sont obtenus en utilisant l'équation de la courbe étalon ($y = -8,245x + 0,6207$; $R^2 = 0,9974$) et les teneurs sont exprimées en équivalent de trolox.

1.2. Activités antiradicalaires

L'activité antiradicalaire de nos extraits a été évaluée en utilisant le radical DPPH[•]. Cette méthode à consister à ajouter 200µL de la solution de DPPH à 50µL de nos extraits de concentrations différentes. L'ensemble est laissé à incubation à la température ambiante pendant 10 mn, la lecture des

absorbances s'est faite à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre de marque Agilent 8354 à monocuve.

2. Résultats et discussion

2.1. Tests de caractérisation physicochimiques des flavonoïdes

L'analyse qualitative après CCM, révélation au réactif de Neu et visualisation sous UV, a permis de mettre en évidence de nombreuses fluorescences^[14] comme indiqué par le chromatogramme de la figure 1. Cela indique ainsi la présence de flavonoïdes dans les extraits de feuilles de *Odontonema strictum*, caractérisée par l'observation des taches pourpre et orange (le tableau 1). En effet, les taches pourpres pourraient correspondre à des flavones méthylées, des flavones ou des chalcones, et celles orangées seraient des flavones ou chalcones^[15].

Tableau 13: Récapitulatif des résultats de caractérisation phytochimiques des flavonoïdes

Extrait	Réactif de Neu		Type de composés probables
	Lumière UV/366 nm		
	Rf	Couleur	
Acétone-eau-HCl A	0,23	Pourpre	Flavones, flavones méthylées chalcones
	0,60	Orange	Flavones et chalcones
Éthanol 1% HCl B	0,25	Pourpre	Flavones, flavones méthylées chalcones
	0,61	Orange	Flavones et chalcones

En somme, dans tous les extraits étudiés, quatre taches correspondent aux flavonoïdes ($R_f = 0,61 ; 0,60 ; 0,25$ et $0,23$). Ces résultats sont en accord avec ceux de KINI et al.^[2] qui avaient mis en évidence la présence des flavonoïdes dans les feuilles de *Odontonema strictum* par spectrophotométrie.

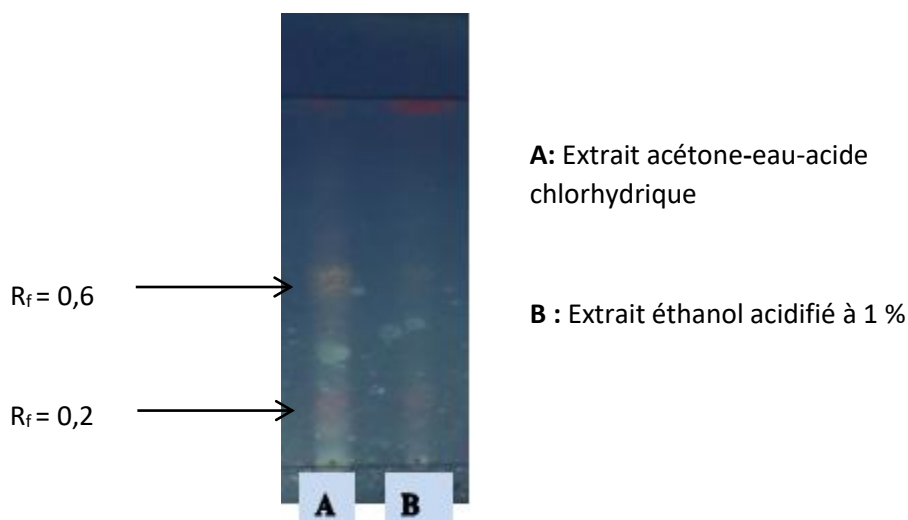


Figure 12: Chromatogramme des extraits de feuilles de *Odontonema strictum*

1.2. Dosage des composés phénoliques et des flavonoïdes totaux

Les résultats du dosage des composés phénoliques et des flavonoïdes totaux sont exprimés respectivement en milligramme d'équivalents d'acide gallique et en milligramme d'équivalents de quercétine par gramme de matériel végétal sec. L'analyse de ces résultats montrent que l'extrait au système acétone-eau-acidifié renferme plus de composés phénoliques (97,55 mg EAG/g) que l'extrait éthanol acidifié (1 %) (16,67 mg EAG/g). Les teneurs en flavonoïdes totaux sont de l'ordre de 98,68 et de 128,78 mg EQ/g respectivement pour l'extrait acétone-eau-acidifié et l'extrait éthanol acidifié (1 %). Cette teneur en composés phénoliques est nettement supérieure à celle d'un extrait aqueux des feuilles de *Odontonema strictum* (27,7 mg EAG/g) obtenue par Ouédraogo et al. Au vu des résultats, les systèmes acétone-eau-acidifié et éthanol acidifié (1 %) sont les solvants les mieux indiqués pour extraire respectivement les composés phénoliques et les flavonoïdes dans les feuilles de *Odontonema strictum*.

Tableau 14: Teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes totaux des extraits de feuilles de *Odontonema strictum*

Extraits	Teneur en composés phénoliques (mg EAG/g)	Teneur en flavonoïdes (mg EQ/mg)
Acétone-eau-acide chlorhydrique	97,55 ± 0,54	98,68 ± 0,11
Ethanol-acide chlorhydrique	16,67 ± 0,93	128,78 ± 0,22

1.3. Teneur en antioxydants par la méthode au DPPH

Tableau 15 : Teneurs en antioxydants des différents extraits

Extrait	Teneur en anti oxydant/ DPPH (mg ET/g)
Acétone-eau-acide chlorhydrique	264,45 ± 0,16
Ethanol-acide chlorhydrique	137,73 ± 0,08

Le tableau ci-dessus montre une teneur en antioxydants plus élevée dans l'extrait à l'acétone-eau acidifié que dans l'extrait à l'éthanol acidifié soit respectivement 264,45 et 137,73 mg ET/g. Les résultats présentés dans le tableau 3 ci-dessus montrent que les deux extraits des feuilles de *Odontonema strictum* sont riches en composés phénoliques particulièrement en flavonoïdes. Selon Clifford M.N et al.^[16], la présence de ces différents composés dans une plante donne à celle-ci différentes propriétés biologiques telle que l'activité antioxydante.

1.4. Evaluation de l'activité antiradicalaire

Dans le but de mieux expliquer les propriétés biologiques des extraits de feuilles de *Odontonema strictum*, nous avons réalisé la mesure des propriétés antiradicalaires. Cela a consisté à déterminer les IC₅₀ de nos extraits en utilisant le DPPH. Pour ce faire, nous avons préalablement tracé des courbes de l'Absorbance = f(Concentration) des différents extraits suite à leur réaction avec le radical de DPPH. Les IC₅₀ ainsi déterminées à partir de ces courbes sont comparées à celle du trolox pris comme antioxydant de référence.

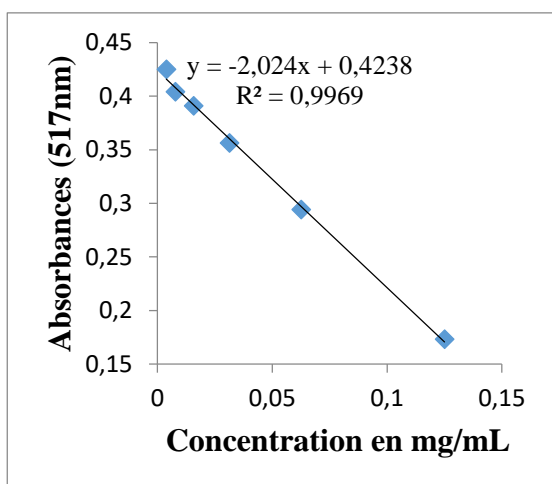


Figure 14: Courbe de régression de l’Absorbance en f(concentration) de l’extrait à l’ acétone-eau acidifié à 0,5 % HCl

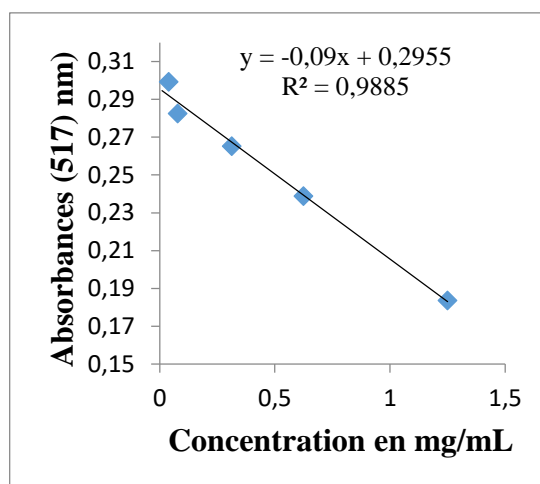


Figure 13: Courbe de régression de l’Absorbance en f(concentration) de l’extrait à l’éthanol acidifié à 1 % HCl

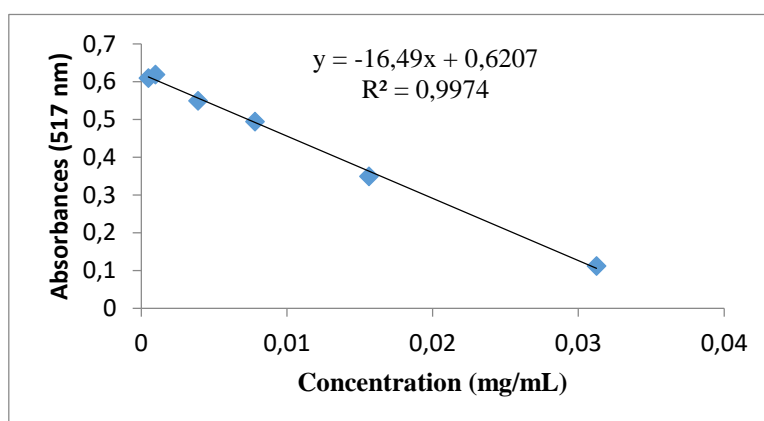


Figure 15: Courbe de régression de l’Absorbance en f(concentration) du trolox

L’IC₅₀ est défini comme étant la concentration de l’extrait qui réduit de moitié la concentration de la solution de DPPH par rapport à la concentration initiale et est exprimée en mg/mL. Les différentes valeurs des IC₅₀ obtenues sont consignées dans le tableau ci-dessous.

Figure 16:Activité antiradicalaire des extraits d’*Odontonema strictum* et du standard (trolox)

Extraits	Valeurs des IC ₅₀ (mg/ml)
Acétone-eau-acide chlorhydrique	0,06 ±0,00
Ethanol-acide chlorhydrique	0,54 ± 0,02
Trolox	0,0460 ± 0,0006

Pour un extrait donné, plus son pouvoir antioxydant est élevé plus son IC₅₀ est faible. Ainsi, il ressort que l’extrait à l’éthanol acidifié (1 %) est moins actif que l’extrait à l’acétone-eau-acidifié. En effet, ce dernier possède une IC₅₀ sensiblement égal à celui du trolox, l’extrait est donc actif, ce qui est en accord avec les résultats d’évaluation des teneurs en antioxydants.

4. Conclusion

La caractérisation par CCM a révélé la présence de flavonoïdes dans les différents extraits étudiés. Les teneurs en composés phénoliques évaluées par la méthode au réactif de Folin-Ciocalteu sont de

97,55 mg EAG/g et de 16,67 mg EAG/g respectivement dans l'extrait à l'acétone-eau acidifié à 0,5 % et dans l'extrait éthanol acidifié à 1 % HCl. Les teneurs en FT obtenus par la méthode de Zhishen et al. sont respectivement 98,68 et 128,78 mg EQ/g pour l'extrait à l'acétone-eau acidifié à 0,5% et pour l'extrait à l'éthanol acidifié à 1 % HCl. La méthode DPPH a révélé que l'extrait à l'acétone-eau acidifié à 0,5% renferme plus d'antioxydants totaux que l'extrait à l'éthanol acidifié à 1% HCl soit respectivement 264,45 et 137,73 mg ET/g. Il ressort aussi que cet extrait possède une excellente capacité inhibitrice vis-à-vis du radical DPPH• (IC₅₀=0,059 mg/mL) comparable à celle du trolox, un antioxydant de référence. Ces différents résultats mettent en évidence le pouvoir d'*Odontonema strictum* pour une utilisation à but pharmaceutique. En perspectives, nous envisageons isoler, caractériser les flavonoïdes présents dans les feuilles d'*Odontonema strictum* par les méthodes spectrales (IR, CLHP/SM/SM, RMN...) afin de déterminer leurs structures complètes et les étudier individuellement du point de vue de leurs activités biologiques.

Références

1. Ouédraogo W. J. C, Koala M., Ouédraogo N, Kini F. B, Gerbaux P. and Bonzi-Coulibaly Y.L.Total Phenolics and Total Flavonoid Contents, Antioxidant Activity and Flavonoids Identification by High-Performance Liquid Chromatography –Tandem Mass Spectrometry of *Odontonema strictum* (Acanthaceae) LeavesAsian J. Plant Sci. Res., (2017), 7(5):54-63
2. . Kini F, Saba A, Tits M, Angelot L et Guissou P. I. Analyse par Chromatographie et par Spectrométrie Electronique des Extraits de Feuilles de *Odontonema strictum* (Acanthaceae). Mise en Evidence de Flavonoïdes du type FlavoneJ. Soc. Ouest-Afr. Chim. (2008) 025 ; 117 -121.
3. . KOALA M. Etude des antioxydants d'Ipomoea batatas (patate douce à chair orange) : structures et propriétés biologiques, thèse de doctorat Université de Ouagadougou, (2015) 151 pages.
4. N. Zeghad. Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Thèse de doctorat Université Mentouri Constantine, (2009) 96 pages
5. Newman D. J., Cragg G. M., Snader K. M. The influence of natural products upon drug discovery. *Natural Product Report*, (2000) 17: 215 - 234.
6. Calixto J. B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: A personal view. *Journal of Ethnopharmacology* , (2005) 100: 131 – 134
7. Duarte J, Pérez-Palencia R, Vargas F, Ocete MA, Pérez-Vizcaino F, et al. Antihypertensive effects of the flavonoid quercetin in spontaneously hypertensive rats. *Br J Pharmacol*, **2001**, 133: 117-124.
8. Casano G, Dumètre A, Pannecouque C, Hutter S, Azas N, et al. Anti-HIV and antiplasmodial activity of original flavonoid derivatives. *Bioorg Med Chem*, **2010**, 18: 6012-6023.
9. Liu HL, Jiang WB, Xie MX. Flavonoids: recent advances as anticancer drugs. *Recent Pat AntiCancer Drug Discov*, **2010**, 5: 152-164.
10. Kusuma IW, Itoh K, Tachibana S. Antifungal activities against plant pathogenic fungi of flavonoids isolated from Amboyna wood. *Pak J Biol Sci*, **2005**, 8:136-140.
11. Ouédraogo W.J.C, Kini F.B, Belemnaba L, Ouédraogo S, Guissou I.P. Standardization of bark root powder of *Zanthoxylum zanthoxyloides* for the production of pediatric phytomedicine against Sickle Cell Disease. *J Soc Ouest Afr Chim*, **2015**, 40: 24-30.
12. Hema. A.: Etude de molécules bioactives isolées de plantes du Burkina Faso *Thèse de doctorat unique* Université de Ouagadougou (2010), 170 pages
13. O'Connell, O. F., Ryan, L., & O'Brien, N. M. Xanthophyll carotenoids are more bioaccessible from fruits than dark green vegetables. *Nutrition Research*, 27 (2007) 258–264.
14. Dohou.N, Yamni.K, Tahrouch.S, Idrissi.H.L.M, Badoc.A,Gmira.N.screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine, *hymelaea lythroides* Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 2003, 142, 61-78
15. Brou K. G., Mamyrbekova-Bekro J. A., Dogbo D. O., Gogbeu S. J. and Bekro Y-A. Sur la Composition Phytochimique Qualitative des Extraits bruts Hydrométhanoliques des Feuilles de 6 Cultivars de *Manihot Esculenta* Crantz de Côte d'Ivoire, *European Journal of Scientific Research*,(2010)pp200-211.
16. Clifford M.N. Appendix 1. A nomenclature for phenols with special reference to tea Washington, DC, CRC Press, Boca Raton Florida, (1999) 41 (5): 393-397.



Activité biofongicide de formulation à base d'huiles essentielles contre les moisissures responsables de contamination post-récolte du maïs au Burkina Faso



OUATTARA Lamoussa Paul¹, DINDANE Zakaria¹, SOALA W. Romain³, SAWADOGO Ignace², ZONGO Cheickna⁴, KONATE Kiéssoun¹, ZIDA P. Elisabeth³, NEBIE C. H. Roger²

¹Laboratoire de Biochimie, Biotechnologie, Technologie Alimentaire et Nutrition (LABIOTAN), UFR/SVT, Université Joseph K+ZERBO 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso.
²Laboratoire des Technologies de Produits Naturels et Environnement (LabTech-PRONE), CNRST/IRSAT, Département Substances Naturelles ; 03 BP 7047 Ouagadougou 03, Burkina Faso.
³Laboratoire de Phytopathologie, (CNRST/ INERA), CREAf Kamboisé, 04 BP 8645 Ouagadougou 04, Burkina Faso.
⁴Laboratoire de Biochimie et Immunologie Appliqué (LABIA), UFR/SVT, Université de Ouagadougou, 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

Auteur correspondant : ouattarapaul@gmail.com

1

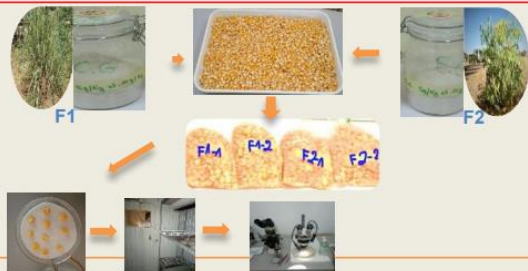
INTRODUCTION

L'agriculture est confrontée à d'innombrables difficultés liées aux champignons phytopathogènes et aflatoxigènes à l'origine des pertes poste-récoltes dont 40% de la production du maïs dans les pays en développement, 80% en Afrique sub-saharienne (Nukenine et al., 2002) et d'intoxications alimentaires à l'origine d'environ 60% des mortalités infantiles (ONU, 2002). Ces effets néfastes ont accentué la lutte institutionnelle et scientifique contre les aflatoxines dans les céréales en Afrique. Les produits chimiques de synthèse bien qu'efficace n'ont pas pu réduire les cas d'intoxications alimentaires. Face à ces problèmes, la recherche scientifique s'oriente jadis vers les substances naturelles à la fois efficaces, moins toxiques et respectueuses de l'environnement (ReCMA-BF). De nombreuses études antérieures ont fait cas de l'efficacité huiles essentielles mais très peu d'informations concernant l'efficacité des formulations poudreuses antifongiques de ces huiles sont disponibles. Nous avons donc mené une étude pour explorer l'activité antifongique de deux formulations biofongicides utilisées dans la conservation post-récolte de maïs au Burkina Faso.

2

MATERIEL ET METHODES

Deux différentes formulations, poudreuses, à base de *Cymbopogon giganteus* (F1) et d'*Eucalyptus camaldulensis* (F2) produites à CNRST/IRSAT ont été testées à partir des tests sanitaires selon le dispositif bloc Fischer (Mathur et Kongsdal, 2003) sur du maïs de la variété KEB collectée à Dédougou pendant la période de septembre et comparées à des témoins non traités.



Le tableau Excel 2019 et le logiciel XLStat 2016 ont servi aux analyses statistiques et construction des figures.

3

RESULTATS ET DISCUSSION

- Les échantillons sont tous contaminés par cinq types de champignons: *A. flavus*, *A. niger*, *Fusarium sp.*, *Rhizopus sp* et *A. parasiticus*.
- A. flavus* est le plus répons dans les différents échantillons
- A. parasiticus* est le moins répons dans les différents échantillons
- Les échantillons NT sont les plus chargé en moisissure
- F1 est le plus fongicide et F2-2

4

Conclusion

En somme, de l'étude de l'effet des biofongicides à base d'HE de *Cymbopogon giganteus* et d'*Eucalyptus camaldulensis*, il y ressort que ces formulations poudreuses sont efficaces contre la croissance mycélienne d'*A. flavus*, d'*A. niger*, d'*A. parasiticus*, des genre *Fusarium* et *Rhizopus*. Les tests ont montré que *Cymbopogon giganteus* aux deux doses et *Eucalyptus camaldulensis* à la dose 2 renferment des propriétés antifongiques intéressantes.

5

Référence bibliographiques

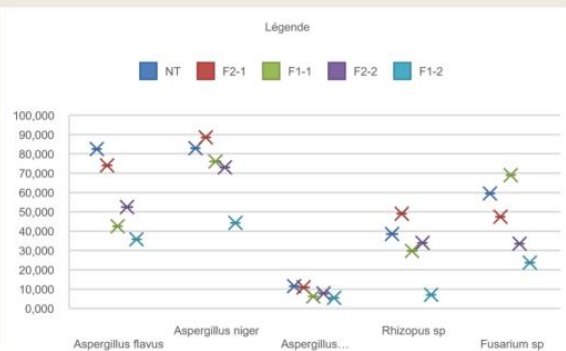
Mathur, S. B. & Kongsdal, O. (2003). Méthodes courantes d'analyse de la santé des semences en laboratoire pour la détection des champignons. Première édition, Kandrups Bogtrykkeri Publication, 425p

Nukenine, E. N., Monglo, B., Awason, I., Ngamo, T. L. S., Tchuengem, F. F. N. & Ngassoum, M. B. (2002). Perception des agriculteurs sur certains aspects de la production de maïs et niveaux d'infestation du maïs stocké par *Sitophilus zeamais* dans la région de Ngaoundéré au Cameroun. *Cameroonian Journal of Biology and Biochemical Sciences*, 12, 18-30.

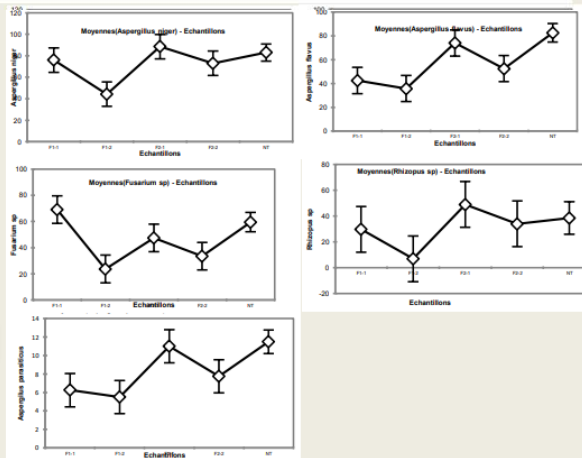
Organisation des Nations Unies (ONU), (2002). Suivi de l'ONU, L'ONU et les droits de l'homme

Remerciements

- Le projet dénommé **ReCMA-BF** ou Réduction de la Contamination du Maïs et sous-produits à base de maïs par les Aflatoxines au Burkina Faso;
- Laboratoire de Phytopathologie, (CNRST/ INERA), CREAf Kamboisé;
- Laboratoire de Biochimie, Biotechnologie, Technologie Alimentaire et Nutrition (LABIOTAN);
- Laboratoire des Technologies de Produits Naturels et Environnement (LabTech-PRONE), CNRST/IRSAT, Département Substances Naturelles,



Graphique I : Titrage des différents biotonicides sur le retard sanitaire des graines incubées



Graphique II : Effet comparé des différents biofongicides sur la mycoflore du maïs

KARISO : Produits naturels à base du beurre du karité pour l'alimentation, la santé de la peau et les soins des cheveux

Mongonbayabou Lamatetou ^{1*}, Alaki-Issi Massimapatom Sema ^{1,2}, Afi Elisabeth Samah ¹

¹Laboratoire d'Analyses, Etalonnage et Expertise (LA2E – Togo SARL) : Quartier Agoé Fiovi, Boulevard CEDEAO, Lomé-Togo.

²Laboratoire Gestion, Traitement et Valorisation des Déchets (GTVD), Faculté des Sciences (FDS, Université de Lomé - BP: 1515 Lomé-Togo

*Correspondance, courriel : lamatetouani@gmail.com. Tel : (00228) 90 06 53 23 /99793885

Résumé

L'Afrique produit la quasi-totalité des 631 500 tonnes d'amandes de karité collectés chaque année dans le monde. La graine de karité contient 50% de matière grasses. Elle est exploitée sous forme d'huile pour la consommation alimentaire, de beurre pour des usages thérapeutiques et cosmétique [1]. Au Togo, 31,25% des unités de production avaient recours au barattage classique, ensuite viennent les procédés de barattage Peuhl (25,00%) et de cuisson directe (25,00%). Les techniques industrielles (06,25%) ainsi que le barattage sans torréfaction (06,25%) sont les moins pratiqués [2]. Le présent travail a pour objectif de valoriser le beurre de karité. Il a été mise en place des produits de marque KARISO, pour la santé de la peau des bébés et des adultes, pour les soins des cheveux, pour la cuisine et pour les vergetures. Une formule de préparation est mise en place pour chaque type de KARISO. Les résultats obtenus ont montré que KARISO entretient bien la peau, traite à 100% les vergetures, fait bien pousser les cheveux et est très bien apprécié à la cuisine. Fort de ces constats, il est alors envisagé par la suite une formule KARISO pour les dartres.

Mots clés : Karité, beurre, santé, peau, cheveux.

KARISO : Natural products based on shea butter for food, skin health and hair care

Abstract

Africa produces almost all of the 631,500 tons of shea kernels collected each year in the world. The shea seed contains 50% fat. It is exploited in the form of oil for food consumption and butter for therapeutic and cosmetic uses [1]. In Togo, 31.25% of the production units used traditional churning, followed by Peuhl churning (25.00%) and direct cooking (25.00%). Industrial techniques (06.25%) as well as churning without roasting (06.25%) are the least practiced [2]. The objective of the present work is to add value to shea butter. It has been set up KARISO brand products, for the health of the skin of babies and adults, for hair care, for cooking and for stretch marks. A preparation formula is set up for each type of KARISO. The results obtained have shown that KARISO maintains the skin well, treats stretch marks 100%, makes hair grow well and is very well appreciated in the kitchen. Based on these findings, a KARISO formula for tartar is then envisaged.

Key words : Shea butter, health, skin, hair.

1. Introduction

Le karité est une espèce végétale sauvage d'importance économique dans les savanes soudaniennes d'Afrique dont les fruits renferment des amandes oléagineuses (**photo 1 et 2**). La matière grasse extraite de ces amandes, le beurre de karité est utilisé dans les industries alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques [3]. Le karité est un arbre qui pousse en zone soudano-sahélienne, une bande de 5 000 km du Sénégal à l'Ouganda. La Guinée, qui est au nombre des pays qui abritent cet arbre, possède 41% de sa superficie où les conditions de sol et de climat lui sont favorables. Depuis les anciens temps, le karité est reconnu par les populations locales de ces zones par le beurre extrait de son amande. Ce beurre connaît de multiples usages : produit alimentaire, cosmétique, hygiénique et médicament.

Cette importance du beurre jadis plus autoconsommée en Afrique s'est accrue à l'échelle internationale par sa place comme matière de base ou ingrédient dans les industries alimentaires (chocolateries, confiseries, pâtisseries), cosmétiques et pharmaceutiques. Les produits du karité (noix, beurre, oléine) font ainsi l'objet de vastes et multiples échanges entre les pays d'Afrique producteurs et le reste du monde. La Guinée, qui n'arrive pas encore à mettre en valeur son grand potentiel karité, est presque absente dans les statistiques mondiales actuelles de commerce de ces produits [4].

Au niveau du Togo, actuellement, le ministère du commerce, de l'industrie et la consommation locale (CICL) a obtenu auprès du Fonds d'Affectation Spéciale du Cadre Renforcée (FASCIR) un don afin de financer la mise en œuvre du projet de durabilité et de renforcement des capacités commerciales de

l'anacarde et du karité [5]. Etant dans cette dynamique de valorisation du karité, le laboratoire LA2E valorise le beurre de karité en mettant sur le marché togolais et internationale les produits de marque KARISO (Produits naturels à base du beurre du karité pour l'alimentation, la santé de la peau et les soins des cheveux).



Photo 1 : Arbre portant les fruits.



Photo 2 : Graines et beurre de.

2. Matériel et méthodes

2.1. Le beurre de karité

Le beurre de karité utilisé provient des commandes auprès des producteurs traditionnels de trois localités du pays à savoir Bafilo, Sotouboua et Sola (Préfecture de la Binah). C'est des localités où le karité est une plante qui y pousse et grandit très bien. Le beurre arrive à bords des bus de transport dans un panier bien confectionné (si la commande provient de sola) ; mais également en bidon de 25L (si la commande est faite dans la localité de Bafilo).

Le beurre en boules est fondu au laboratoire dans des marmites en aluminium (**Photo 3**). Le beurre une fois fondu subit un filtrage à l'aide d'un tamis fin (**Photo 4**) afin de lui débarrasser des matières en suspension s'il y en a encore. Après cette étape de filtrage, vient la formulation de chaque type de KARISO.



Photo 3 : Boules de beurre dans la marmite.

Photo 4 : Filtre de beurre fondu.

2.2. KARISO pour la santé de la peau des bébés et adultes

Les KARISO pommade sont de deux sortes : pour les bébés (**photo 5**) et pour les adultes (**photo 6**). Pour les adultes, c'est composé 100% beurre de karité sans ajout d'autre ingrédient alors que pour les bébés, il a été ajouté de l'huile d'amande douce et l'huile d'olive.



Photo 5 : Kariso adulte.



Photo 6 : Kariso enfant.

2.3. KARISO pour les soins de cheveux

Le KARISO cheveux (**photo 7**) est obtenu en ajoutant à la fonte de karité pour une formulation 1, de la poudre de Tchébé, de l'huile de coco, du mélange d'épices en poudre et du parfum et pour une formulation 2, de la poudre de Tchébé, de l'huile de coco, de l'ail et du gingembre râpés puis du parfum.



Photo 7 : Kariso cheveux.

2.4. KARISO pour les vergetures

Pour les vergetures, la préparation est réalisée à base de beurre de kariso, beurre de cacao, de l'aloès-verra et du jus de citron. Les ingrédients sont mélangés conformément à une formule définie par le laboratoire LA2E.

2.5. KARISO pour la cuisine

Avec une douce odeur de graines, le beurre brut est conditionné après les opérations de purification et d'essais sensoriels en boîte de 500 g pour servir de friture et de divers cuissons. Le processus est assuré conformément aux Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) internationalement reconnues.

2.6. Conditionnement

Après la fonte et filtrage puis formulation, le conditionnement se fait dans des boîtes achetées à ce propos. Les fontes sont pesées directement en boîte à l'aide d'une balance numérique (Model : 30001, Max : 3000 g , e= 1g , d= 0,1 g) (**Photo 8**). Le processus du conditionnement est présenté par les **photos 9, 10 et 11**.



Photo 8 : Balance électronique.



Photo 9 : Pesés des boîtes de kariso.



Photo 10 : Conditionnement des kariso.



Photo 11 : Carton de kariso.

3. Résultats et discussions

3.1. KARISO pour la santé de la peau des bébés et adultes

KARISO est riche en vitamine A, D, E et F et très faiblement saponifiable, ce qui lui confère de nombreuses propriétés de **soins de la peau** et des cheveux.

Il traite certaines maladies de la peau telles que l'eczéma, le psoriasis. Kariso soigne également les desquamations sévères et aussi des crevasses de pieds (**photo 12**). En effet, le kariso aux propriétés anti-inflammatoires et antimicrobiennes répare et apaise la peau abîmée, et laisse la peau belle et douce. Il calme les irritations, et peut même être utilisé sur une piqûre d'insecte. Il désinfecte les plaies et aide à

la cicatrisation de la peau, grâce aux esters résineux et à la vitamine E que l'on retrouve dans sa composition.

Il est utilisé pour le massage donc beaucoup recommandé aux personnes âgées. Grâce à ses effets anti-inflammatoires et antalgiques, Kariso sera utilisés par massage pour soulager les muscles fatigués après une activité physique (sportive, manutention, labour etc..).

Kariso mélangé avec des cendres de coquilles d'escargot traite les brûlures de feu.



Photo 12 : Crevasse de pieds.

Témoignage :

Une fois appliqué sur le corps, l'utilisateur bénéficie de la protection contre les rayons solaires donc empêche les brûlures du soleil sur la peau. En période de fraîcheur, l'application de kariso sur la peau réchauffe le corps. Il est également un remède contre les douleurs de nerfs. En particulier après une perfusion, ou injection il est utilisé pour calmer les douleurs de la partie impliquer. Les résultats sont très nets à cet effet.

3.2. KARISO pour les soins de cheveux

Kariso est un ingrédient que vous pouvez faire recours pour embellir les cheveux. Il nourrit profondément la fibre capillaire, redonne brillance et beauté aux cheveux et protège les colorations capillaires. Kariso cheveux est utilisé pour soigner les chevelures ternes et abîmées.

3.3. KARISO pour les vergetures

Les vergetures également appelées *striae distensae* (ce qui signifie "stries prolongées") sont des lésions cutanées prenant l'aspect de cicatrices.

Les vergetures sont souvent redoutées, car on les sait très fréquentes. Que ce soit à l'adolescence, lors de la grossesse, à la ménopause mais aussi pour les hommes, l'inquiétude de voir apparaître ces traces disgracieuses s'apparentant à des cicatrices sur la peau est toujours présente pour chacun(e) d'entre nous. En effet 80% des femmes présentent des vergetures, contre 40 % des hommes.

Elles apparaissent sur diverses parties du corps et peuvent prendre des caractéristiques différentes en fonction de leur évolution. De façon globale, la peau semble avoir craquelé sur certaines zones, comme si son élasticité avait été insuffisante (**photo 13**). Les vergetures peuvent être plus ou moins nombreuses, étendues et de couleurs variables. Pour comprendre le phénomène, il faut revenir à la structure de la peau.

La peau comprend 3 couches superposées, à l'aspect et au rôle différents : l'épiderme, le derme et l'hypoderme.

Dans le cadre des vergetures, c'est le derme qui sera approfondi. Il se trouve sous l'épiderme et est plus épais que ce dernier. Les vaisseaux sanguins qui nourrissent la peau tout entière le traversent. Les cellules principales du derme sont les fibroblastes. Ils fabriquent deux types de protéines essentielles à la qualité de la peau : l'élastine et le collagène. L'élastine est une protéine de structure. Les fibroblastes la synthétisent principalement lors de la croissance ; elle confère à la peau son élasticité. C'est elle qui permet la « mémoire de forme » de la peau, et qui fait que celle-ci retrouve son aspect original après un pincement ou une distension, comme le ferait un élastique.

Le collagène, protéine de structure également, est lui aussi fabriqué par les fibroblastes. Son rôle est différent et complémentaire à celui de l'élastine : il permet la résistance de la peau, mais lui n'est pas extensible. Le collagène est aussi nécessaire à la cicatrisation de tout tissu.

L'élastine et le collagène agissent de concert pour lui conférer à la fois son élasticité, mais aussi sa résistance à la traction.

Un seul facteur n'est jamais en cause, mais plutôt l'accumulation de plusieurs éléments qui créent un contexte propice à l'apparition des vergetures : la perte d'élastine, une distension trop importante de la peau et sa qualité, une perturbation de la production de collagène. Elles sont fréquemment provoquées par un **étirement rapide de la peau**, ce qui désorganise la structure de la peau et casse les fibres de

collagène, provoquant l'apparition des vergetures, semblables à des fissures. *Les vergetures peuvent également être dues à la prise de certains médicaments : corticoïdes en crème ou par voie orale.*

L'apparition des vergetures est directement corrélée à la qualité de la peau, au collagène et à l'élastine. Ainsi pour avoir une peau de qualité tout au long de la vie et malgré les différentes étapes, il convient de donner à l'organisme ce qui lui est nécessaire pour avoir une belle peau : kariso est une solution naturelle pour aider à amoindrir la trace des vergetures.



Photo 13 : Vergeture sur le ventre.

3.4. KARISO pour la cuisine

Kariso cuisine est un beurre végétal, produit à partir des amandes de fruit de l'arbre de karité pour consommation (**photo 14**). Il est utilisé pour faire des fritures, comme des beignets, de l'igname frit, du fromage, soja etc.... Il peut aussi être utilisé dans les sauces.

Kariso est riche en acides gras mono insaturés, en vitamine E, en polyphénols et antioxydants ce qui lui offre un effet bénéfique sur le système cardio-vasculaire.

Bien sûr, comme pour tout autre produit gras, la consommation alimentaire du beurre de karité doit être modérée [6].



Photo 14 : Kariso cuisine.

4. Conclusion

Depuis 2019, le laboratoire LA2E s'est intéressé au beurre de karité pour diverses raisons. Travailler de façon approfondie pour connaître au mieux cette matière précieuse de l'Afrique aux vertus innombrables mais aussi apporter une valeur à sa qualité sur le marché.

Le Développement de la marque kariso pour l'usage direct dans les aliments et comme cosmétique ou encore comme remède vise à encourager et valoriser le karité. Comme valeur ajoutée, les produits kariso sont conçus avec les référentiels reconnus pour garantir la sécurité des utilisateurs. Sans ajout de produits chimiques, les produits kariso sont utilisés plus comme remède.

En perspective, il est envisagé de mettre en test le kariso d'abord ainsi qu'une solution pour remédier aux effets de la dépigmentation de la peau.

5. Bibliographie

- [1]. Nord-Sud-Terrain, 1998. La nouvelle cote de Karité, Grain de sel- N° 11-octobre 1998
- [2]. Kafui KPEGBA, Sefa Akpedjé KPOKANU, Oudjaniyobi SIMALOU1, Kosi Mawuéna NOVIDZRO et Kossi Honoré KOUMAGLO, 2017. Evaluation des techniques de production du beurre de karité au Togo. Int. J. Biol. Chem. Sci. 11(4): 1577-1591, August 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v11i4.14>
- [3]. Dodiomon SORO , Karidia TRAORE et N'Dja Justin KASSI , 2011. Variabilité des caractères morphologiques chez le karité (*Vitellaria paradoxa*), dans le Nord de la Côte d'Ivoire. Int. J. Biol. Chem. Sci. 5(3): 1201-1214, June 2011. ISSN 1991-8631.
- [4]. ARCA, 2006. Projet activité de renforcement de la commercialisation agricole (ARCA), Avril 2006. Étude sur la collecte et la transformation du karité en guinée
- [5]. TDR, 2022. Terme de référence de l'étude diagnostique des laboratoires d'analyses agro-alimentaires pour la mise en conformité et le développement de business model. Atelier de formation des cadres et techniciens de laboratoires sur les exigences de la norme iso 17025: 2017 ;

[6]. karethic, 2018. Comment utiliser le beurre de karité en cuisine ?

Evaluation de l'activité anti-radicalaire et identification de molécules anthocyaniques du fruit mûr de *Ziziphus mucronata*

Arrounan Noba¹, Adama Hema^{1*}, Bazoin Sylvain Raoul BAZIE⁴, Remy K. Bationo^{1,3}, Moumouni Koala^{1,2}, Constantin M. Dabiré¹, Eloi Palé¹ et Mouhoussine Nacro¹

¹Laboratoire de Chimie Organique et de Physique Appliquées (L.C.O.P.A.), Université Joseph KI-ZERBO, UFR/SEA, Département de Chimie 03 BP 7021 Ouagadougou 03 Burkina Faso.

²Institut de Recherche en Sciences de la Santé, Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique (IRSS/CNRST), 03 BP 7047 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

³CNRST/IRSAT/ Département Substances Naturelles, 03 BP 7047 Ouagadougou 03 Burkina Faso

⁴Laboratoire National de Santé Publique (LNSP), 09 BP 24 Ouagadougou 09 Burkina Faso

*Auteur correspondant : hemaadama@yahoo.fr

Résumé

Les anthocyanes sont des pigments colorés hydrosolubles appartenant au groupe phénolique. Ces pigments se présentent sous des formes glycosylées. Les anthocyanes responsables des couleurs, rouge, pourpre et bleu, se trouvent dans les fruits et légumes. Du fruit mûr de *Ziziphus mucronata*, récolté dans la forêt classée de Niangoloko, deux anthocyanes ont été identifiées par chromatographie liquide à haute performance couplée à la spectrométrie de masse à interface d'ionisation par pulvérisation (CLHP-ESI-MS/MS). Ainsi, le fruit mûr de *Z. mucronata* renfermerait la cyanidine 3-*O*-glucoside et la cyanidine 3-*O*-galacotside. Par la méthode à l'ABTS et au DPPH les teneurs en antioxydant sont respectivement de 206,57±7 et 88,72±0,87 mg d'ET/100 g de fruits frais.

Par la méthode au DPPH, l'activité antiradicalaire de l'extrait anthocyanique a été évaluée. Le résultat a été comparés à ceux de l'acide ascorbique et du Trolox. L'extrait présente une CE₅₀ de 342,90 µg/mL contre 1,32 et 21,8 µg/mL respectivement pour l'acide ascorbique et le Trolox et un temps T_{EC50} de 28 minutes (réaction intermédiaire). Ce fruit sauvage **représente un réservoir de substances bioactives naturelles très intéressantes pour les consommateurs.**

Mots clés : *Ziziphus mucronata*, antiradicalaire, CLHP-ESI-MS/MS, cyanidine

Evaluation of the anti-free radical activity and identification of anthocyanins molecules of the ripe fruit of *Ziziphus mucronata*

Abstract

Anthocyanins are water-soluble colored pigments belonging to the phenolic group. These pigments are present in glycosylated forms. The anthocyanins responsible for the colors red, purple and blue are found in fruits and vegetables. From the ripe fruit of *Ziziphus mucronata*, harvested in the classified forest of Niangoloko, two anthocyanins were identified by high performance liquid chromatography coupled to spray ionization interface mass spectrometry (HPLC-ESI-MS/MS). Thus, the ripe fruit of *Z. mucronata* was found to contain cyanidin 3-*O*-glucoside and cyanidin 3-*O*-galacotside. By the ABTS and DPPH methods, the antioxidant contents are 206.57±7 and 88.72±0.87 mg ET/100 g of fresh fruit.

By the DPPH method, the antiradical activity of the anthocyanin extract was evaluated. The result was compared with those of ascorbic acid and Trolox. The extract presents an EC₅₀ of 342.90 µg/mL against 1.32 and 21.8 µg/mL respectively for ascorbic acid and Trolox and a TEC₅₀ time of 28 minutes (intermediate reaction). This wild fruit represents a reservoir of natural bioactive substances very interesting for consumers.

Keywords : *Ziziphus mucronata*, antiradical, HPLC-ESI-MS/MS, cyanidin

Introduction

Les anthocyanes sont des pigments solubles dans l'eau qui peuvent être utilisés pour la coloration de différents produits alimentaires. Elles appartiennent à la famille des flavonoïdes et ont cette capacité d'absorber la lumière visible. Ce sont également des pigments responsables de la coloration des plantes en bleu, rouge, mauve, rose ou orange. A l'origine de la couleur des fleurs, des fruits [1] et des baies rouges ou bleues, elles sont généralement localisées dans les vacuoles des cellules épidermiques. Leurs propriétés pharmacologiques, notamment antioxydantes, sont nombreuses et bien décrites dans la littérature [2]. En effet, les anthocyanes se sont avérées être de bons composés antioxydants en raison de leurs propriétés efficaces de piégeage des radicaux libres et ont montré de nombreux avantages potentiels pour la santé dans des études *in vitro* et *vivo* [3] [4]. La présente étude fait partie de notre programme de recherche sur les composés anthocyaniques d'origine végétale. Elle porte sur le fruit mûr d'une plante du Burkina Faso, le fruit mûr de l'espèce *Ziziphus mucronata*.

Ziziphus mucronata est une espèce de la famille des rhamnacées. Il se présente en buissons ou arbustes à nombreux rameaux glabres, brun rougeâtre-foncés, enchevêtrés, parfois sarmenteux avec des épines droites et d'autres recourbées [5]. Les fruits sont des drupes sphériques d'environ 1,5 cm de diamètre, verts lorsqu'ils sont jeunes, et rouge-brun foncé à maturité. Il contient un noyau à deux graines noyées dans une pulpe fibreuse. *Ziziphus mucronata* se retrouve dans toute l'Afrique intertropicale, à Madagascar et au Yémen [4] [5]. Au Burkina Faso, il se rencontre essentiellement en zones aride et semi-aride ; c'est-à-dire les régions du plateau central, du nord, du centre nord et de l'est [5]. Le fruit de cette espèce est riche en composés phénoliques notamment les flavonoïdes [6]. Par ailleurs, Ali et collaborateurs en 2016, ont estimé que le fruit de *Ziziphus mucronata* peut servir de bonne source de protéines, de matières grasses brutes (lipides) et de glucides [7]. Il faut noter que la richesse en éléments nutritifs (protéines, glucides, lipides, composés phénoliques, et la vitamine C) de ce fruit pourrait faire de celui-ci une source potentiel d'éléments nutritifs pour les consommateurs.

Cependant, la structure des molécules anthocyaniques ainsi que l'activité antiradicalaire de ce fruit n'ont pas encore fait l'objet d'études scientifiques. **Cette étude permet de mesurer pour la première fois les propriétés antioxydantes des anthocyanes de ce fruit par la méthode au radical libre 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) et d'identifier la structure des molécules anthocyaniques par CLHP-ESI-MS.**

Matériel et méthodes

• Matériel végétal

Les fruits mûrs de l'espèce *Ziziphus mucronata* ont été récoltés dans la forêt classée de Niangoloko. Les fruits ont été soigneusement lavés et conservés au congélateur.

Les fruits ont été légèrement broyer à l'aide d'un mortier en porcelaine. Le broyat obtenu a été utilisé pour les différentes extractions.

• Extraction

Extraction des composés phénoliques totaux

Les composés phénoliques en général et les flavonoïdes en particuliers ont été extraits par macération de 15 g de fruit dans environ 60 mL d'un système de solvant acétone-eau-acide acétique (70 : 29,5 : 0,5, v/v) pendant 72 heures à 4°C. L'opération a été répétée en triplicata. L'extraits obtenu a fait l'objet d'une extraction liquide-liquide avec le chloroforme dans le but de débarrasser l'extrait de tout composé non phénolique. Le volume obtenu à partir de ces différentes étapes est soigneusement mesuré stocké à 4°C jusqu'aux mesures.

Extraction des anthocyanes

Les anthocyanes ont été extraites par macération de 50 g de fruit dans du méthanol acidifié (1% HCl) pendant 72 heures à 4°C. L'opération a été répétée en triplicata. L'extrait a été concentré à presque sec sous pression réduite (40 mbar) à l'aide d'un évaporateur rotatif (Buchi Switzerland, Rotavapor R-300) et conservés à 4°C.

• Analyse par HPLC-MS/MS des anthocyanes

Purification sur Amberlite XAD-7 : après extraction par le méthanol acidifié (1% HCl), l'extrait brut anthocyanique a été purifié. En effet, l'extrait brut obtenu a été concentré à sec et récupéré avec un minimum d'eau distillée acidifié puis filtré. Ainsi, la fixation sur l'Amberlite XAD-7 a été effectuée dans une colonne de 24 cm (Amberlite) de long et de 3 cm de diamètre. L'Amberlite a été préparée dans de l'éthanol. Le mélange obtenu est versé dans la colonne et laissé reposer. Avant le dépôt de l'extrait aqueux, la colonne est lavée à l'eau pour éliminer l'alcool. L'extrait concentré est chargé sur la résine Amberlite XAD-7 avec soin. Un lavage préalable à l'eau distillée jusqu'à ce que l'éluant soit neutre est effectué, ensuite une élution

avec de l'éthanol contenant du HCl (1%) est réalisée. L'éluât recueilli est concentré à sec sous pression réduite (40 mbar) à l'aide d'un évaporateur rotatif (Buchi Switzerland, Rotavapor R-300). La température du bain a été fixée à 35°C, avec une vitesse de rotation de 120 *tours.min*⁻¹. **L'identification et l'évaluation de l'activité antiradicalaire ont été réalisés sur les extraits anthocyaniques totaux.**

Identification d'anthocyanes par HPLC-MS/MS : l'analyse HPLC-ESI-MS a été effectuée à l'aide d'un système HPLC Agilent-1290 infinity équipé d'un détecteur de masse (MS) 6430 triple quad LC/MS, muni d'une interface d'ionisation par électrospray (ESI) (Agilent Technologies, USA) et d'une station de travail Agilent MassHunter version B.06.00 pour le traitement des données. La séparation a été effectuée dans une colonne Zorbax SB-C18 (250 mm × 4,6 mm, 5 µm). La colonne a été contrôlée par thermostat à 25°C, et le débit a été réglé à 600 µL/min. La phase mobile était composée de deux solvants : eau - acide formique (A, 95 : 5, v/v) et acétonitrile-acide formique (B, 95 : 5, v/v). Le gradient des solvants dans les rapports volumétriques était le suivant : 0-5 min, 95% A ; 5-15 min, 90% A ; 15-25 min, 90% A ; 25-35 min, 88% A ; 35-50 min, 85% A ; 50-60 min, 82% A ; 60-80 min, 75% A ; 80-90 min, 70% A ; 90-100 min, 95% A. Il y a eu un post-dépassement de 10 min, ce qui ramène aux conditions de départ. Cinquante microlitres (50 µL) d'échantillon, préalablement filtré à travers une membrane acétate de cellulose (Millipore 25 mm, 0,45 µm.) ont été injectés. Les spectres de masse des ions ont été enregistrés en mode d'ionisation positive dans la plage de m/z 100-1200. L'azote a été utilisé comme gaz de séchage et de nébulisation à un débit de 10 L/min et à une pression de 15 psi. La température du nébuliseur a été réglée à 200°C, et un potentiel de 3500 V a été utilisé sur le capillaire.

1. Détermination des teneurs en antioxydants totaux par la méthode DPPH

La détermination des teneurs en antioxydants totaux (TAT) de nos extraits a été effectuée suivant la méthode proposée par Zhang et collaborateurs en 2015 [8] avec quelques légères modifications.

2. Détermination des teneurs en antioxydants totaux par la méthode ABTS

Les teneurs en antioxydants totaux de chaque extrait ont été déterminées par le test de décoloration des cations radicaux ABTS décrit par Re et collaborateurs en 1999 [9]. Une courbe standard a été préalablement établit avec différentes concentrations du standard Trolox. Toutes les mesures ont été effectuées en triplicata.

3. Détermination de l'activité antiradicalaire par la méthode au DPPH

La solution du radical solution du radical DPPH• a été fraîchement préparée en dissolvant 2 mg du réactif dans 50 mL de méthanol. Des volumes de 25 µL de l'extrait sont mélangés avec 225 µL de la solution du DPPH•. Le mélange réactionnel est agité vigoureusement pendant 10 secondes. A des intervalles de temps réguliers (1 min), les absorbances à 517 nm ont été enregistrées (contre le méthanol) à l'aide d'un spectrophotomètre SAFA MP96 [10]. La cinétique de réduction du radical DPPH• à différentes concentrations de chaque échantillon testé a été suivie au cours du temps jusqu'à l'obtention d'un plateau au temps final (Téq). La réduction des radicaux libres a été évaluée par le rapport relatif de la concentration résiduelle $[DPPH•]_{t=T_{eq}}$ restant en fin de cinétique par rapport à sa concentration initiale :

$$\% DPPH• = \frac{[DPPH•]_{t=T_{eq}}}{[DPPH•]_{t=0}} \times 100.$$

A partir de la courbe traçant la relation entre le pourcentage de réduction $\%(DPPH•)_R$ et la concentration de l'extrait on a déduit par interpolation graphique la concentration CE_{50} et le temps T_{CE50} .

L'activité antioxydante est meilleure lorsque la valeur de la CE_{50} est petite. Une solution du Trolox et de l'acide ascorbique ont été utilisées comme standard.

RESULTATS ET DISCUSSION

Identification d'anthocyanes par HPLC-ESI-MS/MS

Le couplage HPLC-ESI-MS est une technique efficace pour l'identification des composés inconnus avec une sélectivité et une sensibilité élevées [11]. Dans le cas de notre étude, les structures des molécules anthocyaniques ont été identifiées principalement sur la base de leurs temps de rétention et des données des spectres MS [12]. Comme le montre la figure 1, deux (02) anthocyanes différentes ont été détectées dans l'extrait de *Z. mucronata*.

Le fruit de *Z. mucronata* est riche flavonoïdes tels que la rutine (quercétine 3-O-rutinoside), l'isoquercétine (hyperoside) et la quercitrine (quercétine 3,7-O-L-dirhanmopyranoside). Par ailleurs, la delphinidine 3-O-glucoside a été identifié dans ce fruit [6]. Le tableau 1 montre deux molécules anthocyaniques qui ont pu être identifiées comme étant les dérivés de la cyanidine.

Les pics 1 et 2 présentent des ions moléculaires à m/z 449 et des schémas de fragmentation identiques (figure 2 et 3), mais leur temps de rétention dans le système CLHP a été de 18 et 22 min pour les signaux 1 et 2,

respectivement. Leur ordre d'élution caractérisé par leurs polarités différentes et leurs caractéristiques MS suggèrent qu'il pourrait s'agir de la cyanidine 3-*O*-galactoside (figure 4) et de la cyanidine 3-*O*-glucoside (figure 5), respectivement. En effet, l'ion moléculaire à m/z 449, par perte d'une unité de 162 a.m.u donne un ion fragment à m/z 287 qui correspondrait à l'aglycone de la cyanidine (figure 4 et 5). Par ailleurs, en analyse CLHP à phase inverse, les anthocyanes les plus polaires sont éluées en premier. En outre, les données de la littérature indiquent que la séquence d'élution des glycosides d'anthocyanidine est galactose-glucose ce qui signifierait que la cyanidine 3-*O*-galactoside est plus polaire que son homologue glucoside. Cela expliquerait donc la différence des temps de retentions du composé 1 et 2 [13] [14]. Le composé 1 serait donc cyanidine 3-*O*-galactoside et le composé 2 serait donc la cyanidine 3-*O*-glucoside. Cependant, ce résultat est un peu différent de celui trouvé par Koïta et collaborateurs en 2011 [6] dans le fruit de *Z. mucronata*. Ces auteurs avaient identifié en plus des dérivés de la quercétine, un dérivé de la delphinidine qui n'a pas été trouvé dans notre extrait. Cette différence serait probablement due au fait que la composition des anthocyanes dans les fruits dépend de leur origine, et des conditions environnementales.

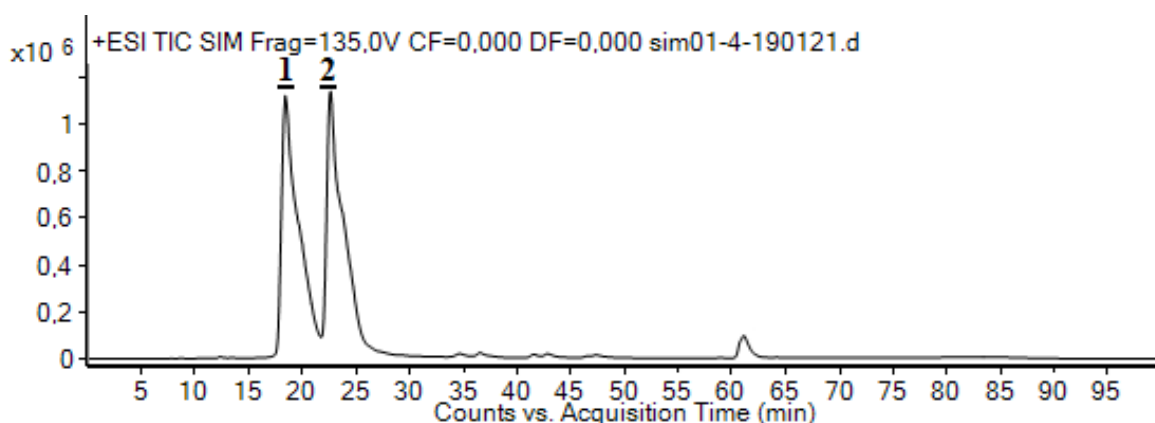


Figure 1 : Chromatogramme HPLC de l'extrait méthanolique

Tableau 1 : Identification des anthocyanes du fruit de *Ziziphus mucronata*

Pics	Temps de rétention (min)	Composé	[M] ⁺	[M-162] ⁺	Molécules identifiées
1	18,4205	<u>1</u>	449	287	Cyanidine 3- <i>O</i> -galactoside
2	22,6385	<u>2</u>	449	287	Cyanidine 3- <i>O</i> -glucoside

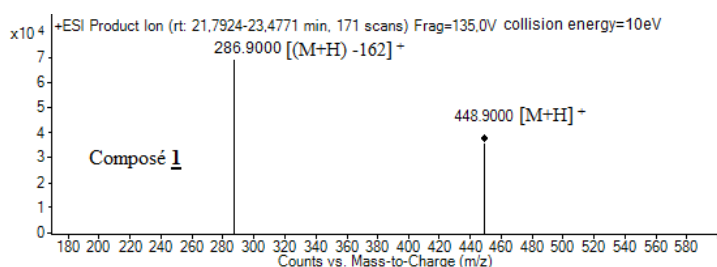


Figure 2 : Spectre de masse du composé 1

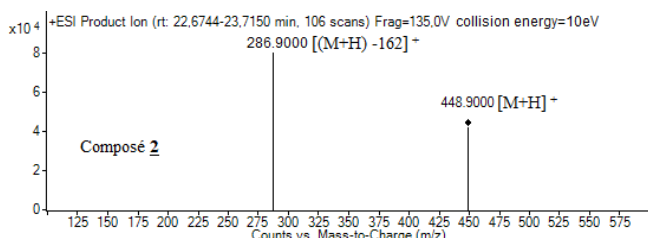


Figure 3 : Spectre de masse du composé 2

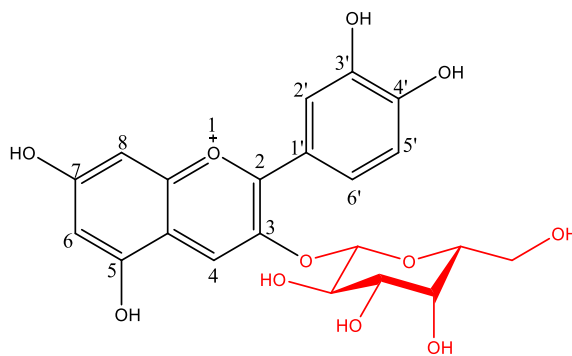


Figure 4 : Cyanidine 3-*O*-galactoside (Composé **1**)

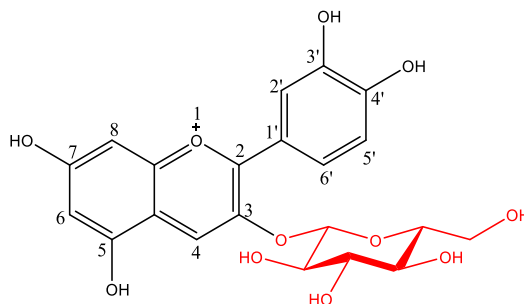


Figure 5 : Cyanidine 3-*O*-glucoside (Composé **2**)

glucoside (Composé **2**)

1. Teneur en antioxydants totaux

L'évaluation de la teneur en antioxydants est de plus en plus pertinente dans le domaine de la nutrition, car elle fournit des informations utiles sur la qualité sanitaire et fonctionnelle des matières premières sans qu'il soit nécessaire d'analyser chaque composé antioxydant [15]. Ce paramètre tient compte de la présence de piègeurs efficaces de radicaux d'oxygène, tels que la vitamine C et les composés phénoliques, et de leurs effets synergiques et/ou antagonistes. Dans cette étude, nous avons utilisé deux tests *in vitro*, à savoir le test à l'ABTS et le test de piégeage des radicaux libres en utilisant le radical DPPH[•]. Par ces deux méthodes la teneur en antioxydants de notre extrait est estimée à 206,57±7 et 88,72±0,87 mg d'ET/100 g de fruits frais respectivement. Ces teneurs sont de loin meilleures que celles fruit de *Saba senegalensis* [16] qui est un fruit sauvage beaucoup consommé au Burkina Faso.

Tableau 2 : Teneur en antioxydants

Teneur en mg/100 g	TAO	
	ABTS	DPPH
	206,57±7	88,72±0,87

1. Activités anti-radicalaires

La méthode utilisant le radical DPPH[•] a été utilisée pour la détermination de l'activité antiradicalaire. Par cette méthode, la concentration du radical réduit par les extraits anthocyaniques totaux pendant 40 minutes a été mesurée. Ainsi, la réactivité est estimée par la concentration effective CE₅₀ (ou l'inverse 1/CE₅₀) de l'extrait, qui correspond à une réduction de 50% de l'activité (de l'absorbance) du radical DPPH[•] dans le mélange réactionnel. La capacité antioxydante d'un composé est d'autant plus élevée que sa CE₅₀ est petite. En outre, pour mieux caractériser le pouvoir anti-radicalaire de notre extrait, le suivi de la cinétique de la réduction a été effectué par la détermination du temps T_{EC50} nécessaire pour atteindre l'équilibre à CE₅₀.

L'extrait anthocyanique étudié présente une CE₅₀ de 342,90 µg/mL contre 1,32 et 21,8 µg/mL respectivement pour l'acide ascorbique et le Trolox et un temps T_{EC50} de 28 minutes (réaction intermédiaire) (tableau 3). En effet, le temps T_{EC50} permet de classer la réactivité d'un extrait. La réaction est rapide lorsque le T_{EC50} est inférieur à 5 minutes, intermédiaire lorsque T_{EC50} est compris entre 5 à 30 minutes et lente si le T_{EC50} est supérieur à 30 minutes [10]. Notre extrait est moins actif que l'acide ascorbique et le Trolox utilisés comme référence.

Cependant, l'extrait présente une réactivité intermédiaire tout comme les deux standards utilisés. La complexité des molécules anthocyaniques constituant cet extrait serait à l'origine de la faible activité antiradicalaire et la faible

réactivité. En effet, l'encombrement stérique du site radicalaire du DPPH évoqué dans la littérature serait un facteur de sous-estimation des activités antiradicalaires. Toutefois, les travaux d'identification des anthocyanes majoritaires ont montré que les monoglucosides de la cyanidine se retrouveraient dans notre extrait.

Il faut noter également que les différents constituants de l'extrait peuvent agir en synergie, chacun influence plus ou moins la capacité antioxydante globale.

En outre, les extraits totaux d'anthocyanes sont des mélanges complexes dont les activités antioxydantes ne sauraient être expliquées par les seules considérations structurales des constituants anthocyaniques. Il pourrait y avoir des composés non anthocyaniques affectant dans tel ou tel sens l'activité antiradicalaire. L'activité d'un antioxydant dépend de sa capacité à former (lors du processus d'inhibition d'un radical libre) un radical plus stable [17]. Le nombre de groupements hydroxyles et de sucres contribue à augmenter ou à diminuer la stabilité, affectant ainsi le potentiel antioxydant. Elle dépend aussi du radical libre choisi pour évaluer la capacité antioxydante.

Outre l'activité antiradicalaire des anthocyanes, elles présentent d'énormes propriétés biologiques telles que l'activité anti-inflammatoire, anticancéreuse et ont un impact majeur sur la prévention et le contrôle des maladies cardiovasculaires [18].

Tableau 3 : Activités antioxydantes de l'extrait anthocyanique total déterminées par la méthode au DPPH

Extraits totaux	Equation de la courbe	Coefficient de corrélation	Capacité antioxydante	
			CE ₅₀ (µg/mL)	T _{EC50} (min)
Acide ascorbique	$3,4752x^{-0,402}$	0,9997	1,32	11
Trolox	$1,3158x^{-0,946}$	0,9896	21,38	11
<i>Z. mucronata</i>	$23,161x^{-0,719}$	0,9881	342,90	28

i. Conclusion

Deux molécules anthocyaniques ont été identifiées dans ce fruit étudié à savoir la cyanidine 3-*O*-glucoside et la cyanidine 3-*O*-galactoside. Par ailleurs, nous avons évalué l'activité antiradicalaire et suivi la cinétique de réduction du radical DPPH• de l'extrait riche en anthocyane du fruit de *Z. mucronata*. L'extrait a manifesté une activité antiradicalaire plus faible (342,90 µg/mL) que celle des deux standards utilisés (Acide ascorbique 21,38 µg/mL, Trolox 1,32 µg/mL). Cela pourrait s'expliquer par plusieurs facteurs tels que le mécanisme de **piégeage du radical DPPH**. Malgré une activité antiradicalaire faible, **nous pouvons dire que cette espèce peu exploitée, qui pousse à l'état sauvage et dont ses fruits sont consommés, représente un réservoir de substances bioactives naturelles très intéressantes pour la prévention et le traitement d'un grand nombre de pathologies.**

Références bibliographiques

- E. Palé, M. Nacro, M. Vanhaelen, and R. Vanhaelen-Fastré, "Anthocyanins from fruits of *Vigna Subterranea*," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 45, pp. 3359–3361, 1997.
- A. Hema, E. Palé, P. Duez, M. Luhmer, and M. Nacro, "Activités anti-radicalaires de trois anthocyanines monoglucosides isolées des graines de glycine max," *J. la société Ouest Africaine la Chim.*, vol. 023, pp. 61–66, 2007.
- R. E. Wrolstad, "Symposium 12 : Interaction of natural colors with other ingredients-anthocyanin pigments-bioactivity and coloring properties," *J. Food Sci.*, vol. 69, p. C419–C421, 2004.
- D. Ghosh and T. Konishi, "Anthocyanins and anthocyanin-rich extracts : role in diabetes and eye function," *Asian Pacific J. Clin. Nat.*, vol. 16, p. 200–208, 2007.
- S. Y. Sawadogo, "Etudes phytochimiques et activités biologiques des écorces des racines de *Zizyphus mauritiana* lam (rhamnaceae) et des feuilles de *Zizyphus mucronata* willd (rhamnaceae)," Université de Bamako, République du Mali, 2012.
- K. Koïta, F. B. Neya, N. Opoku, Y. Baissac, and C. Campa, "Phytochemical analysis of *Zizyphus mucronata* Willd . extract and screening for antifungal activity against peanut pathogens," *African J. Plant Sci.*, vol. 11, no. 10, pp. 394–402, 2017, doi: 10.5897/AJPS2017.1600.
- R. P. Ali, H. M. Maina, and O. O. Friday, "Determination of the Nutritive Values of *Zizyphus Mucronata* Obtained from Bagale Hills of Girei Local Government Area of Adamawa State, Nigeria," *IOSR J. Appl. Chem.*, vol. 9, no. 9, pp. 105–108, 2016, doi: 10.9790/5736-090902105108.
- Y. Zhang, I. Han, and P. Dawson, "Antioxidant Activity Assessment and Color Analysis of Skin from Different Peach Varieties Grown in South Carolina," *Food Nutr. Sci.*, vol. 06, pp. 18–28, 2015, doi: 10.4236/fns.2015.61003.
- R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, and C. Rice-evans, "Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay," *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 26, no. 9–10, pp. 1231–1237, 1999, doi: 10.1016/S0891-

5849(98)00315-3.

C. Popovici, I. Saykova, and B. Tylkowski, "Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH," *Rev. génie Ind.*, vol. 4, pp. 26–39, 2009.

M. Yang, J. Sun, and Z. Lu, "Phytochemical analysis of traditional Chinese medicine using liquid chromatography coupled with mass spectrometry," *J. Chromatogr. A*, vol. 1216, no. 11, pp. 2045–2062, 2009.

X. Wu and R. L. Prior, "Systematic identification and characterization of anthocyanins by HPLC-ESI-MS/MS in common foods in the United States: fruits and berries," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 53, no. 7, pp. 2589–2599, 2005.

A. B. Cerezo, E. Cuevas, P. Winterhalter, M. C. Garcia-Parrilla, and A. M. Troncoso, "Isolation, identification, and antioxidant activity of anthocyanin compounds in Camarosa strawberry," *Food Chem.*, vol. 123, no. 3, pp. 574–582, 2010, doi: 10.1016/j.foodchem.2010.04.073.

M. Filip, M. Vlassa, F. Copaciu, and V. Coman, "Identification of anthocyanins and anthocyanidins from berry fruits by chromatographic and spectroscopic techniques to establish the juice authenticity from market," *J. Planar Chromatogr.*, vol. 25, no. 6, pp. 534–541, 2012, doi: 10.1556/JPC.25.2012.6.8.

L. Scalfi, V. Fogliano, A. Pentangelo, G. Graziani, and I. Giordano, "Antioxidant Activity and General Fruit Characteristics in Different Ecotypes of Corbarini Small Tomatoes," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 48, pp. 1363–1366, 2000.

A. Noba *et al.*, "Carotenoids identification by HPTLC-MS and vitamin C content of fruits of Saba senegalensis (A . DC) Pichon," *African J. Pure Appl. Chem.*, vol. 14, no. 3, pp. 60–68, 2020, doi: 10.5897/AJPAC2020.0832.

W. Bors, W. Heller, C. Michel, and M. Saran, "Flavonoids as Antioxidants: Determination of Radical-Scavenging Efficiencies," *methods Enzymol.*, vol. 186, pp. 343–355, 1990.

M. K. Swamy, "Plant-derived Bioactives," *Springer Nat. Singapore Pte Ltd*, pp. 1–592, 2020, doi: <https://doi.org/10.1007/978-981-15-2361-8>.

Activités antioxydantes et effets inhibiteurs des fractions de *Cassia occidentalis* et de *Leptadenia hastata* sur l'enzyme α -glucosidase

Wende-konté Hazael Conania NIKIEMA^a, Yssouf KARANGA^{a,b}, T. Hamidou GANAME^a, Ousmane ILBOUDO^a, Issa TAPSOBA^{a,*}

^aLaboratoire de Chimie Analytique Environnementale et Bio-organique (LCAEBiO), Université Joseph KI-ZERBO, UFR/SEA, Département de Chimie 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

^bLaboratoire de Chimie des Matériaux et de l'Environnement, (LCME), Université Norbert ZONGO, Koudougou, BP 376 Burkina Faso.

RESUME

Les plantes médicinales sont reconnues comme une source de molécules actives susceptibles de traiter plusieurs maux. *Cassia occidentalis* et *Leptadenia hastata* sont deux herbacées utilisées dans le traitement du diabète. L'objectif de ce travail est d'évaluer les potentiels antioxydants et antidiabétiques des fractions de ces deux herbacées.

Les teneurs les plus élevées en antioxydants sont celles des fractions acétate d'éthyle des tiges et des feuilles de *C. occidentalis* respectivement de $114,062 \pm 2,698$ et $82,962 \pm 3,189$ $\mu\text{g ET/mg}$ d'extrait et la fraction au dichlorométhane des feuilles de *L. hastata* estimées à $60,379 \pm 0,153$ $\mu\text{g ET/mg}$ d'extrait selon la méthode DPPH. L'évaluation de l'activité antidiabétique en suivant l'inhibition de l' α -glucosidase a montré que toutes les fractions possèdent des propriétés antidiabétiques. Les meilleures activités antidiabétiques sont obtenues avec la fraction acétate d'éthyle des tiges de *C. Occidentalis* avec un $\text{IC}_{50} = 0,274 \pm 0,003$ mg/mL et la fraction au DCM de *L. hastata* avec un $\text{IC}_{50} = 0,431 \pm 0,012$ mg/mL comparables à la référence acarbose ($\text{IC}_{50} = 0,215 \pm 0,004$ mg/mL). Ces fractions pourraient être utilisées dans le cadre du traitement contre le diabète

Mots clés : *Cassia occidentalis*, *Leptadenia hastata*, diabète, α -glucosidase, antioxydants

Abstract

Medicinal plants are recognised as a source of active molecules that can treat many ailments. *Cassia occidentalis* and *Leptadenia hastata* are two herbs used in the treatment of diabetes. The objective of this work is to evaluate the antioxidant and anti-diabetic potential of the fractions of these two herbs.

The highest antioxidant contents are those of the ethyl acetate fractions of the stems and leaves of *C. occidentalis* respectively 114.062 ± 2.698 and 82.962 ± 3.189 $\mu\text{g TE/mg}$ extract and the dichloromethane fraction of the leaves of *L. hastata* estimated at 60.379 ± 0.153 $\mu\text{g TE/mg}$ extract according to the DPPH method.

Evaluation of anti-diabetic activity by tracking α -glucosidase inhibition showed that all fractions possess anti-diabetic properties. The best anti-diabetic activities were obtained with the ethyl acetate fraction of *C. Occidentalis* stems with an $\text{IC}_{50} = 0.274 \pm 0.003$ mg/mL and the DCM fraction of *L. hastata* with an $\text{IC}_{50} = 0.431 \pm 0.012$ mg/mL comparable to the reference acarbose ($\text{IC}_{50} = 0.215 \pm 0.004$ mg/mL). These fractions could be used in the treatment of diabetes.

Keywords : *Cassia occidentalis*, *Leptadenia hastata*, diabetes, α -glucosidase, antioxidants

Introduction

Le diabète est une maladie métabolique responsable de graves problèmes de santé publique. Il s'agit d'une affection chronique se traduisant par un taux de sucre élevé dans le sang. Selon l'OMS, le diabète se caractérise par un état d'hyperglycémie permanente avec une glycémie à jeun supérieure ou égale à 1,26 g/L (7 mmol/L) à deux reprises et ou supérieure ou égale à 2 g/L (11 mmol/L) à n'importe quel moment de la journée [1].

En Afrique subsaharienne, la prévalence se situe entre 0,2 et 12 % [2] et au Burkina Faso, en 2013 elle était de 4,9 % au sein de la population dont l'âge est compris entre 25 et 64 ans [3].

Au Burkina Faso, la précarité des conditions de prise en charge des diabétiques ainsi que l'indigence socio-économique constituent autant de freins à une glycémie normale indispensable à la prévention des complications chez le diabétique [4].

La population burkinabè, essentiellement rurale ne bénéficient pas d'une couverture sanitaire satisfaisante. La responsabilité est imputable aux coûts trop élevés des médicaments modernes généralement inaccessibles à toutes les couches sociales. En effet 80 % de la population burkinabè vivent de l'agriculture et de l'élevage, des secteurs encore très peu rentable. Et selon le rapport du Ministère

de la Santé burkinabè en 2015, 43,9 % de la population burkinabè au niveau national vivaient en dessous du seuil de pauvreté [3].

L'utilisation de plantes médicinales pourrait contribuer à une meilleure prise en charge des personnes atteintes de diabète. *L. hastata* et *C. occidentalis* renferment des composés phénoliques [5], [6]. Des études ont révélées que la présence de ce groupe de composés bioactifs pourrait inhiber l'enzyme alpha glucosidase qui est responsable de l'hydrolyse des hydrates de carbones [8]–[11] et donc permettrait de réduire l'hyperglycémie postprandiale.

I. Matériels et méthodes

I-1. Matériel végétal

Le matériel végétal a été récolté en octobre 2021 à Ouagadougou. Les feuilles de *L. hastata* ont été récoltées à Ouagadougou, plus précisément dans le quartier Ouaga 2000 au coordonnées GPS 12°18'39,83''N ; 1°30'1,97''W. Quant à *C. Occidentalis* les tiges et les feuillées ont été récoltées à Dayongo aux coordonnées GPS 12°19'12,80''N ; 1°26'17,85''W. Ces plantes ont été identifiées par le Professeur Amadé OUEDRAOGO, botaniste au Laboratoire de Biologie et d'Ecologie Végétale (La.B.E.V.) de l'Université Joseph KI-ZERBO et des spécimens sont déposés à l'herbarium sous les numéros d'identification 18013 (*Cassia occidentalis* L.) et 18014 (*Leptadenia hastata*). Les parties récoltées des plantes ont été séparées des mauvaises herbes et lavées soigneusement à l'eau de robinet. Elles sont ensuite séchées à la température ambiante du laboratoire pendant une semaine sous ventilation. Le matériel végétal sec a ensuite été pulvérisé et la poudre obtenue est conservée pour la suite de nos travaux.

I-2. Extraction

L'extraction a été faite selon un protocole décrit au laboratoire [12] avec quelques modifications. En effet, 100 g de la poudre végétale a été dégraissée par l'hexane (3×250 mL). 50 g de cette poudre sont macérés dans 3 × 500 mL d'un mélange éthanol-eau (80/20, v/v) pendant 20 heures. Après filtration sur papier Wattman N° 1, le filtrat obtenu est concentré sur évaporateur rotatif à 50 °C pour donner l'extrait brut. 5 g de l'extrait brut est dissout dans 150 mL d'eau distillée et extrait successivement avec des solvants de polarité croissante. Ainsi, nous avons procédé à l'extraction avec (3×50 ml) de dichlorométhane, suivi de (3×50 ml) d'acétate d'éthyle et enfin (3×50 ml) de n-butanol. Les fractions ainsi obtenues sont évaporées à sec puis conservées pour la suite de l'étude.

I-3. Dosage des composés phénoliques totaux

La teneur en composés phénoliques totaux des fractions a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu [13]. A 60 µL de chacune des solutions à différentes concentrations sont ajoutés 60 µL de RFC et 120 µL de Na₂CO₃ 7,5% (m/v) ajoutés 8 min après. Le mélange réactionnel est incubé pendant 1 h et les absorbances sont lues à 765 nm avec un lecteur multi plaque de marque SPECTROstar NANO, BMG LABTECH. Les teneurs en composés phénoliques sont déterminées et exprimées en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg d'extrait).

I-4. Dosage des flavonoïdes totaux

Les flavonoïdes présents dans les différentes fractions ont été évalués par la méthode de Chang et al. (2002) [14] avec de légères modifications. A 50 µL des fractions de plantes à différentes concentrations sont ajoutés à 150 µL d'eau distillée suivi de 15 µL de NaNO₂ à 5% (m/v). 5 min après, 15 µL de AlCl₃ 10% (m/v) y sont ajoutés puis l'ensemble est incubé à la température ambiante pendant 6 min. Les lectures des absorbances à 510 nm sont faites après l'ajout de 50 µL de NaOH 1 N. Les teneurs en flavonoïdes sont exprimées en microgramme équivalent de quercétine par milligramme d'extrait (µg EQ/mg d'extrait).

I-5. Dosage des tanins condensés

Le dosage des tanins condensés est réalisé selon la méthode de Broadhurst et Jones [15] avec quelques modifications. A 400 µL de chaque échantillon avec des dilutions convenables, on ajoute 3 mL de la solution de vanilline (4 % dans le méthanol) et 1,5 mL de HCl concentré.

Après 15 minutes de réaction, l'absorption est lue à 500 nm. Les teneurs en tanins sont exprimées en microgramme équivalent de catéchine par milligramme d'extrait (µg EC/mg d'extrait).

I-6. Méthode FRAP

Le pouvoir réducteur a été évalué selon la méthode décrite par Piljac-Zegarac et al 2009 [16]. A chaque 50 µL de l'extrait à des concentrations différentes sont ajoutés 200 µL du réactif FRAP. Après 10 min d'incubation à la température du laboratoire, l'absorbance de la coloration bleue intense est lue à 595 nm. Cette densité optique est rapportée sur la courbe d'étalonnage établie en utilisant le trolox comme antioxydant de référence. Les résultats sont exprimés en microgrammes équivalent de trolox par milligramme d'extrait (µg ET/mg d'extrait).

I-7. Méthode DPPH

Le test DPPH permet de mesurer le pouvoir anti radicalaire de molécules pures ou d'extraits végétaux. La méthode DPPH utilisée est celle de Sanchez-Moreno (2002) [17] avec de légères modifications. Ainsi, à 50 µL de l'extrait sont additionnés à 200 µL de solution fraîchement préparée de DPPH. Après 10 min d'incubation, la lecture des absorbances est faite à 515 nm avec un spectrophotomètre.

I-8. Inhibition de l'enzyme α-glucosidase

L'activité inhibitrice de l'enzyme α-glucosidase des extraits a été évaluée selon la méthode rapportée par Ranilla et al. 2010 [18] avec de légères modifications.

Ainsi, dans un mélange contenant 20 µL de l'enzyme α-glucosidase (1 unité/mL) et 120 µL de tampon phosphate 0,1 M à pH 6,9, on y introduit 10 µL de chaque fraction de plantes à différentes concentrations. Chaque solution obtenue est pré-incubée dans des microplaques de 96 puits à 37 °C pendant 15 minutes. Après incubation, la réaction enzymatique est initiée en y ajoutant 20 µL de solution de 5 mM p-nitrophényl-α-D-glucopyranoside dans un tampon phosphate 0,1 M (pH 6,9) et le mélange réactionnel est incubé pendant 15 minutes supplémentaires à 37°C. La réaction est arrêtée par l'ajout de 80 µL de solution de carbonate de sodium 0,2 M. La lecture de l'absorbance est faite à une longueur d'onde à 405 nm par un spectrophotomètre de type SPECTROstar NANO, BMG LABTECH

Le système réactionnel sans extraits de plantes est utilisé comme contrôle et le système sans l'enzyme α-glucosidase est utilisé comme blanc pour corriger l'absorbance de fond.

L'acarbose est utilisé comme témoin positif.

Le taux d'inhibition de l'enzyme α-glucosidase est calculé par la formule suivante :

$$\text{Taux d'inhibition}(\%) = \frac{Ac-As}{Ac} \times 100 \quad \text{Avec :}$$

AC : Absorbance du contrôle, AS : Absorbance de l'extrait dans le système réactionnel

II. Résultats

II-1. Screening chimique

Tableau XVI: Résultats du screening chimique

Groupes chimiques	<i>L. hastata</i>				<i>C. occidentalis</i>					
	Feuilles				Feuilles			Tiges		
	DCM	AcOEt	BuOH	H ₂ O	ACF	BUF	H ₂ OF	ACT	BUT	H ₂ OT
Flavonoïdes	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tanins	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Quinones	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+

(+) : test positif ; (-) : test négatif

Le screening phytochimique a révélé que les fractions de plantes renferment des tanins et des flavonoïdes. Pour les quinones, seule la fraction DCM de *L. hastata* ne renferme pas de quinones.

II-2. Teneurs en composés phénoliques

Les teneurs en composés phénoliques totaux (TCP), en flavonoïdes totaux (TFT) et en tanins condensés (TTC) des plantes étudiées sont présentées dans les histogrammes de la figure suivante :

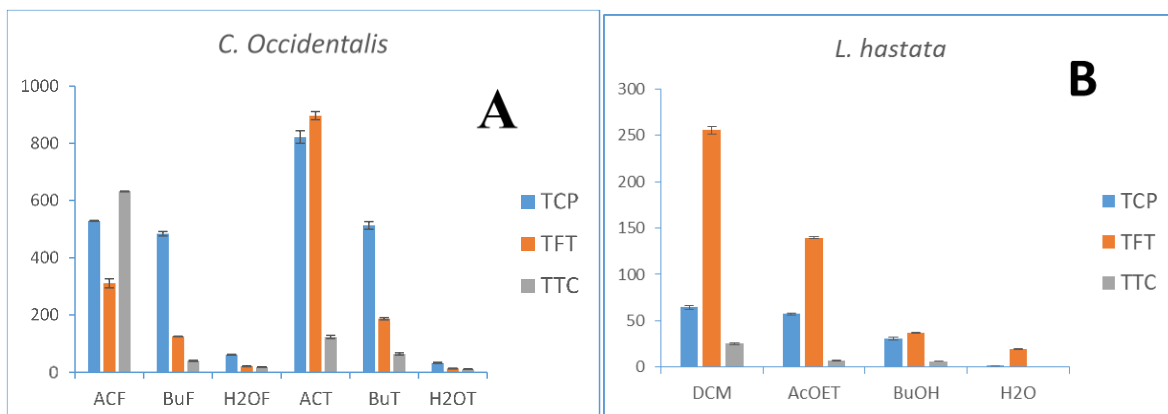


Figure 17: Teneurs en composés phénoliques totaux (TCP), en flavonoïdes totaux (TFT) et en tanins condensés (TTC) de *C. occidentalis* (A) et de *L. hastata* (B)

L'analyse de ces histogrammes révèle que les fractions à l'acétate d'éthyle des tiges (ACT) et des feuilles (ACF) de *C. occidentalis* renferment les plus fortes teneurs en composés phénoliques, 821,8 et 528,9 µg EAG/mg d'extrait respectivement pour ACT et ACF. Ces mêmes fractions sont également riches en flavonoïdes totaux et leurs teneurs sont estimées respectivement à 896,5 et 310,9 µg EQ/ mg d'extrait.

Pour ce qui est de *L. hastata* c'est la fraction dichlorométhane (DCM) qui contient plus de composés phénoliques avec une teneur de 64,5 µg EAG/mg d'extrait, suivi de la fraction acétate d'éthyle avec une teneur estimée à 57,5 µg EAG/mg d'extrait. La fraction DCM contient plus de flavonoïdes totaux avec une valeur de 255,7 µg EQ/ mg. La meilleure teneur obtenue avec la fraction DCM pourrait s'expliquer par la présence des aglycones flavonoïdes dans les extraits. Ce résultat est en accord avec les travaux de Ganamé et al. (2020) [19].

Quant aux tanins condensés, les fractions ACF, ACT de *C. occidentalis* contiennent plus de tanins condensés que les autres fractions de plantes. Les teneurs sont estimées à 631,9 et 122,8 µg EC/mg d'extrait respectivement. Quant à *L. hastata* la fraction DCM renferme les teneurs les plus élevées en tanins condensés qui sont de 25,2 µg EC/mg d'extrait suivie de 7,1 et 6,2 µg EC/mg d'extrait respectivement pour les fractions acétate d'éthyle (AcOET) et butanol (BuOH). Une analyse comparative montre que les feuilles de *C. occidentalis* contiennent plus de tanins condensés que les tiges mais aussi des feuilles de *L. hastata* au regard de leurs teneurs élevées en tanins condensés.

II-3. Activité antioxydante

Méthodes FRAP et DPPH

La figure 3 représente les résultats obtenus suite à l'évaluation des activités antioxydantes (FRAP et DPPH) des fractions de *C. occidentalis* et de *L. hastata*.

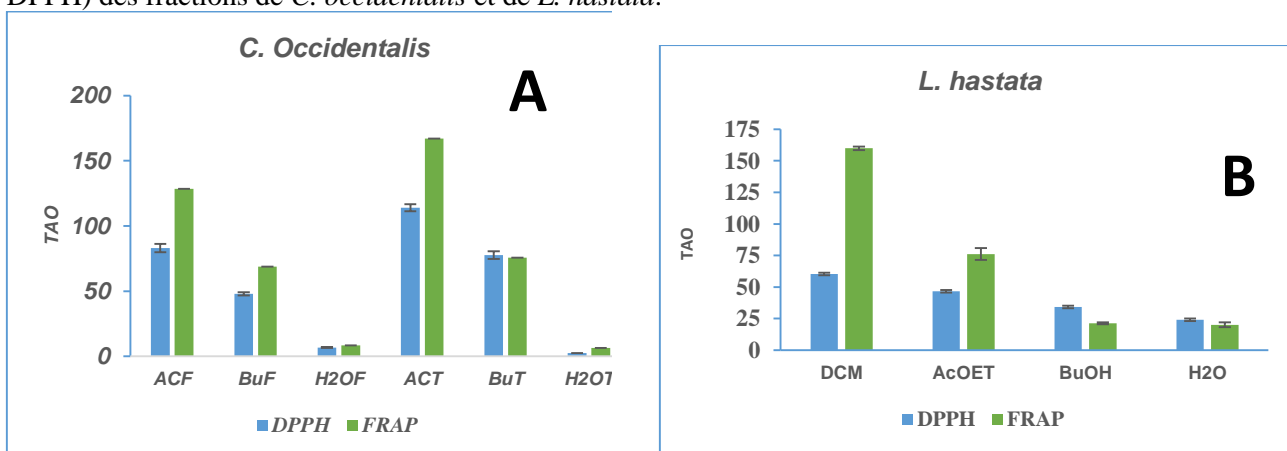
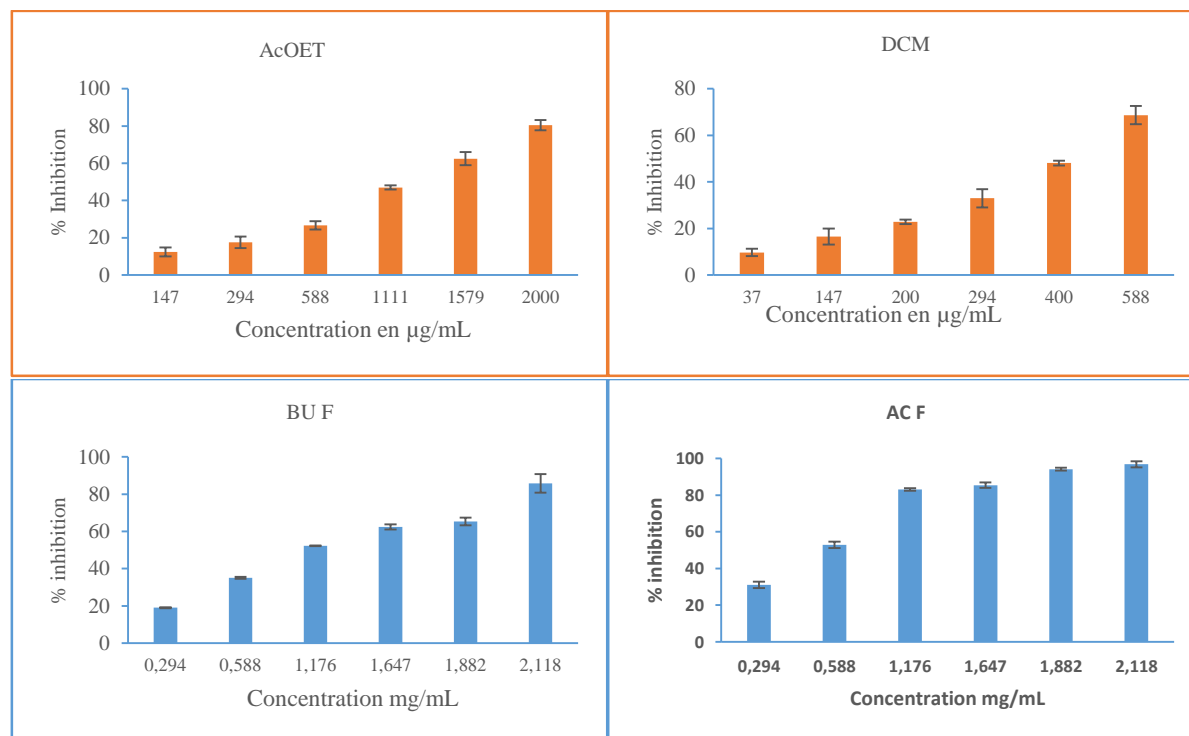


Figure 18: Teneurs en antioxydants des fractions de *C. occidentalis* (A) et de *L. hastata* (B)

Les résultats obtenus montrent que les fractions possèdent des activités antioxydantes indépendamment de la méthode utilisée. Pour le cas des feuilles de *C. occidentalis*, il ressort que la fraction ACF renferme la meilleure teneur en antioxydants suivi de la fraction butanol (BuF) respectivement de 82,96 et 47,93 µg ET/mg d'extrait selon la méthode DPPH. Ce résultat est confirmé par ceux obtenus par la méthode FRAP (128,49 et 68,78 µg ET/mg d'extrait respectivement pour ACF et BuF) et pourrait s'expliquer par le fait que ces fractions possèdent les meilleures teneurs en CPT et TFT. Il est de même pour les tiges de *C. occidentalis*, où la fraction ACT renferme aussi les meilleures teneurs en antioxydants suivit de la fraction BuOH respectivement 114,06 et 77,72 µg ET/mg d'extrait selon la méthode DPPH. Les mêmes tendances sont observées lorsque les teneurs en antioxydants sont évalués selon la méthode FRAP (167,06 et 75,79 µg ET/mg d'extrait pour ACT et BuT respectivement). Pour ce qui est de *L. hastata*, l'examen des résultats montre que la fraction DCM renferme la meilleure teneur en antioxydants suivi de la fraction AcOET et de la fraction BuOH selon la méthode DPPH. Les teneurs sont estimées respectivement à 60,379, 46,569 et 34,262 µg ET/mg d'extrait. Ces mêmes fractions présentent également les meilleures teneurs en antioxydants selon la méthode FRAP (159,93, 76,14 et 21,24 pour DCM, AcOET et BuOH respectivement). Ces résultats pourraient s'expliquer par la teneur élevée en CPT et TFT. Les meilleures activités sont observées avec les fractions ACT, ACF de *C. occidentalis* et DCM de *L. hastata*. Ces fractions renferment de fortes teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes totaux. Ces résultats sont en accord avec les travaux déjà réalisés qui ont indiqué que les flavonoïdes possèdent des propriétés antioxydantes [20], [21]. Ainsi, l'utilisation des antioxydants par les personnes atteintes de diabète pourrait prévenir à long terme des complications qui pourrait en découler [19].

II-4. Activité antidiabétique

Nous avons réalisé les tests antidiabétiques sur les fractions de plantes qui renferment les meilleures teneurs en composés phénoliques et partant en flavonoïdes. En effet, selon la littérature la présence de cette famille de composés bioactifs aurait des effets inhibiteurs sur l'activité de l'enzyme α -glucosidase [22]. Les résultats obtenus ont été présenté dans les histogrammes de la **figure 3**.



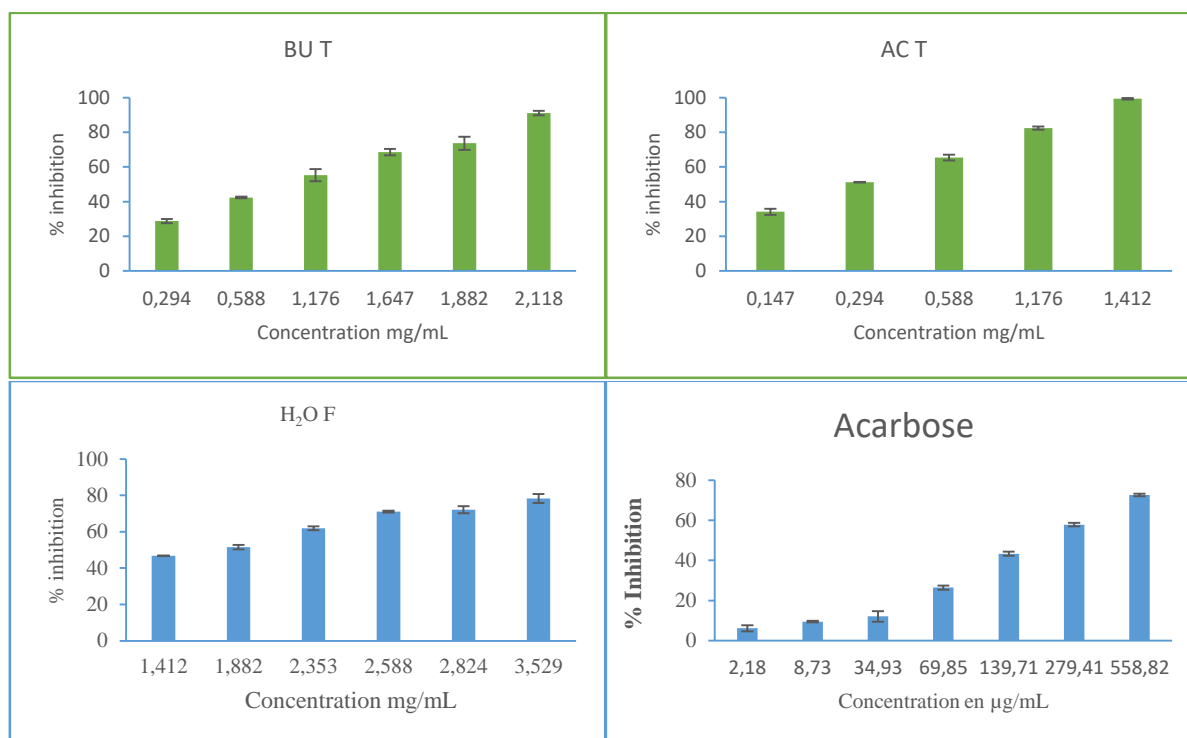


Figure 19: Activité inhibitrice des fractions de *C. occidentalis* et de *L. hastata* sur l' α -glucosidase

Toutes les fractions ont montré un effet d'inhibition sur l' α -glucosidase et ce, dépendant de la concentration (**Figure 3**). Ces résultats montrent que les différentes fractions étudiées possèdent des propriétés antidiabétiques. Pour cette activité, les fractions DCM, ACT et ACF ont montré de plus forte inhibition de l'enzyme α -glucosidase. Elles représentent les fractions actives. Ces résultats sont également confirmés sur la base des valeurs des IC_{50} (**Cf. tableau II**), la fraction ACT ($IC_{50} = 0,274 \pm 0,003 \mu\text{g/mL}$) étant la plus active.

Tableau XVII: IC_{50} des fractions de plantes et de l'Acarbose

Plantes	Fractions	IC_{50} (mg/mL)
<i>L. hastata</i>	DCM	$0,431 \pm 0,012$
	AcOET	$1,195 \pm 0,004$
	BuOH	$1,623 \pm 0,010$
<i>C. Occidentalis</i> Feuilles	ACF	$0,538 \pm 0,011$
	BuF	$1,069 \pm 0,009$
	H₂OF	$1,703 \pm 0,018$
<i>C. Occidentalis</i> Tiges	ACT	$0,274 \pm 0,003$
	BuT	$1,048 \pm 0,012$
	H₂OT	$2,163 \pm 0,006$
Standard	Acarbose	$0,215 \pm 0,004$

III. Discussion

Cette étude est réalisée afin de pouvoir trouver des médicaments à base de plantes qui permettraient de prévenir ou de soulager les patients atteints du diabète. Les plantes médicinales sont utilisées depuis

l'antiquité pour soigner diverses pathologies dont le diabète, car leurs principaux composants bioactifs ont montré de bonnes propriétés antidiabétiques et antioxydantes.

Les composés phénoliques qui sont présents dans ces plantes semblent avoir un effet d'une importance particulière dans le traitement du diabète. En effet, plusieurs études ont pu établir la corrélation entre les propriétés antidiabétiques des extraits de plantes avec leur teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes [8], [23].

Après avoir évalué la teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes totaux ainsi que les activités antioxydantes des fractions, celles qui sont riches en composés phénoliques ont présenté de meilleures activités antioxydante conformément aux données de la littérature [24].

Pour ce qui est de l'activité antidiabétique les fractions ACT, ACF et DCM ont montré un effet d'inhibition intéressant. En effet, ces fractions ont présenté de faibles IC₅₀ comparativement aux autres fractions. ACT (IC₅₀ = 0,274 ± 0,003 mg/mL) est plus active que les fractions ACF (IC₅₀ = 0,538 ± 0,011 mg/mL) et DCM (IC₅₀ = 0,431 ± 0,012 mg/mL) en témoigne la faible valeur de son IC₅₀. Elle a une activité comparable à celle du standard acarbose (IC₅₀ = 0,215 ± 0,004 mg/mL).

Une analyse approfondie de ces résultats montre une parfaite corrélation entre la teneur en composés polyphénols totaux et les propriétés antidiabétiques et ces résultats sont en accord avec les données de la littérature [8], [23].

Conclusion

Dans ce présent travail, l'inhibition des fractions de *C. occidentalis* et de *L. hastata* sur l'enzyme α -glucosidase a été évaluée. Les résultats obtenus après investigation nous ont permis d'établir une corrélation entre cette activité et les composés polyphénoliques présents dans chaque fraction. La réalisation de fractionnements bio-guidés permettra de caractériser les molécules bio actives responsables de cette activité pour une utilisation dans le système de santé moderne.

Références bibliographiques

- [1] N. J. Sandrine, "Nécessité et faisabilité de la décentralisation de la prise en charge des malades diabétiques à tous les niveaux de la pyramide sanitaire au Mali," Thèse de doctorat, Université de Bamako, 2008.
- [2] M. Y. Téné, C. G. Kyelem, S. M. Ouédraogo, D. Lankoandé, and M. M. Rouamba, "Caractéristiques cliniques des volontaires au dépistage du diabète : pistes pour la prévention au Burkina Faso," *Heal. Sci. Dis.*, vol. 15, no. 1, pp. 1–6, 2014.
- [3] "Rapport de l'enquête nationale sur la prévalence des principaux facteurs de risques communs aux maladies non transmissibles au Burkina Faso enquête steps 2013," Ministère de la santé, Burkina Faso, 2014.
- [4] M. Ouedraogo, S. M. Ouedraogo, E. Birba, and Y. J. Drabo, "Complications aiguës du diabète sucre au centre hospitalier national Yalgado OUEDRAOGO," *Med. Afr. Noire*, vol. 47, no. 12, pp. 1–3, 2000.
- [5] S. Abubakar *et al.*, "Nutritional and Pharmacological Potentials of *Leptadenia Hastata* (pers .) Decne . Ethanolc Leaves Extract," *J. Food Nutr. Res.*, vol. 2, no. 1, pp. 51–55, 2014.
- [6] J. . P. Yadav, V. Arya, S. Yadav, M. Panghal, S. Kumar, and S. Dhankhar, "Cassia occidentalis L .: A review on its ethnobotany , phytochemical and pharmacological profile," *Fitoterapia*, vol. 81, pp. 223–230, 2010.
- [7] Y. Karanga, "Etudes phytochimiques et évaluation des propriétés antifongiques de *Euphorbia hirta* L.," Thèse de doctorat, Université OUAGA I Pr Joseph KI-ZERBO, 2018.
- [8] T. T. Mai, N. N. Thu, P. G. Tien, and N. Van Chuyen, "Alpha-glucosidase inhibitory and antioxidant activities of vietnamese edible plants and their relationships with polyphenol contents," *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)*, vol. 53, no. 3, pp. 267–276, 2007.
- [9] K. Mohan and R. Balsamy, "Inhibitory effect of *Gymnema montanum* leaves on α - glucosidase activity and α -amylase activity and their relation ship with polyphenolic content," *Med. Chem. Res.*, vol. 19, no. 8, pp. 948–961, 2010.
- [10] M. A. Sheliya *et al.*, "In vitro α - glucosidase and α - amylase inhibition by aqueous , hydroalcoholic , and alcoholic extract of *Euphorbia hirta* L .," *Drug Dev. Ther.*, vol. 7, no. 1, pp. 26–30, 2016.
- [11] A. N. Ukwuani and M. O. Igbokwu, "In vitro antidiabetic effect of *Leptadenia hastata* leaves fractions," *Biosci. Res. Today's World*, vol. 1, pp. 40–46, 2016.
- [12] I. Ousmane, "Flavonoïdes de *Mentha Piperita* (lamiaceae): analyse par spectrométrie de masse et évaluation de leurs propriétés antifongiques," Thèse de doctorat, Université de Ouagadougou, 2013.
- [13] Vernon L. Singleton, O. Rudolf, and L.-R. M. Rosa, "Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent," *Methods Enzymol.*, vol. 299, pp. 152–178, 1999.
- [14] C. Chang, M. Yang, H. Wen, and J. Chern, "Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods," *J. Food Drug Anal.*, vol. 10, no. 3, pp. 178–182, 2002.

- [15] R. B. Broadhurst and W. T. Jones, “Analyses of condensed tannins using acidified vanillin,” *J. Sci. Food Agric.*, vol. 29, no. 9, pp. 788–794, 1978.
- [16] B. A. Piljac-Zegarac J, Stipcević T, “Antioxidant properties and phenolic content of different floral origin honeys,” *J. ApiProduct ApiMedical Sci.*, vol. 1, no. 2, pp. 43–50, 2009.
- [17] C. Sanchez-Moreno, “Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems,” *Food Sci. Technol. Int.*, vol. 8, no. 3, pp. 121–137, 2002.
- [18] L. G. Ranilla, Y.-I. Kwon, E. Apostolidis, and K. Shetty, “Bioresource Technology Phenolic compounds , antioxidant activity and in vitro inhibitory potential against key enzymes relevant for hyperglycemia and hypertension of commonly used medicinal plants , herbs and spices in Latin America,” *Bioresour. Technol.*, vol. 101, no. 12, pp. 4676–4689, 2010.
- [19] T. H. Ganamé, Y. Karanga, O. Ilboudo, and W.-K. H. C. Nikiema, “ α -Glucosidase Inhibitory and Antiradical Properties of *Acacia macrostachya*,” *Eur. J. Med. Heal. Sci.*, vol. 2, no. 5, p. 4, 2020.
- [20] B. G. N. Quezada, M. Asencio, J.M. Del Valle, J.M. Aguilera, “Antioxidant Activity of Crude Extract , Alkaloid Fraction , and Flavonoid Fraction from Boldo (*Peumus boldus* Molina) Leaves,” *J. Food Sci.*, vol. 69, no. 5, pp. 371–376, 2004.
- [21] L. Zhang *et al.*, “Antidiabetic and antioxidant effects of extracts from *Potentilla discolor* Bunge on diabetic rats induced by high fat diet and streptozotocin,” *J. Ethnopharmacol.*, vol. 132, no. 2, pp. 518–524, 2010.
- [22] K. Mohan and R. Balsamy, “Inhibitory effect of *Gymnema Montanum* leaves on α - glucosidase activity and α -amylase activity and their relationship with polyphenolic content,” *Med. Chem. Res.*, vol. 19, pp. 948–961, 2010.
- [23] A. Bello, A. A. Aliero, Y. Saidu, S. Muhammad, U. Musa, and P. M. B. Katsina, “Phytochemical screening, Polyphenolic Content and Alpha-Glucosidase Inhibitory Potential of *Leptadenia hastata* (Pers .) Decne,” *Niger. J. Basic Appl. Sci.*, vol. 19, no. 2, pp. 181–186, 2011.
- [24] A. A. Basma, Z. Zakaria, L. Y. Latha, and S. Sasidharan, “Antioxidant activity and phytochemical screening of the methanol extracts of *Euphorbia* figure 4 L.,” *Asian Pacific J. Trop. Med.*, vol. 4, no. 5, pp. 386–390, 2011.

Etude phytochimique, teneurs en composés phénoliques totaux et potentiel antioxydant de différents organes de *Grangea maderaspatana* du Burkina Faso

YOUNGBOU Abdoulaye¹, DABIRE Constantin M.^{1,2,*}, BATIONO K. Rémy^{1,3}, HEMA Adama¹, PALE Eloi¹, NEBIE C.H. Roger³, Danhabal S.P.⁴

¹Laboratoire de Chimie Organique et de Physique appliquées, Université Joseph KI-ZERBO, 01 BP 1021 Ouaga 01, Burkina Faso

²Laboratoire de chimie et Energies Renouvelables, Université Nazi BONI, 01 BP 1091, Bobo 01. Burkina Faso

³Institut de Recherche en Sciences Appliquées et Technologies (IRSAT), Centre National de la Recherche Scientifique et Technique (CNRST) 01 BP 1023 Ouaga 01, Burkina Faso

⁴JSS College of Pharmacy, Ooty, Tamil Nadu, India.

Résumé

Ce travail est une contribution à une meilleure utilisation de *Grangea maderaspatana* (Asteracea) à travers une étude chimique et l'évaluation des activités antioxydantes des extraits de ses différents organes.

Les extraits ont été obtenus à partir des racines, fleurs, rameaux feuillés et de la plante entière en utilisant l'hexane, le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle et le méthanol. L'étude chimique a été réalisée au moyen de la CCM, des réactions colorimétriques et de précipitations. Les teneurs des métabolites secondaires ont été évaluées par des méthodes spectrophotométriques.

Le criblage chimique a révélé la présence de tanins, flavonoïdes, alcaloïdes, stérols et terpènes. Les teneurs en polyphénols totaux varient de 0,051 à 93,455 mg d'EAG/g respectivement dans l'extrait au dichlorométhane des rameaux feuillés et celui à l'acétate d'éthyle des fleurs. Celles des flavonoïdes totaux sont comprises entre 82,984 dans l'extrait méthanolique des racines et 753,337 mg EQ/g dans celui à l'acétate d'éthyle des fleurs. Les teneurs en antioxydants totaux évaluées par les méthodes DPPH[•], FRAP et ABTS^{•+} sont les plus élevées dans les extraits à l'acétate d'éthyle. Il ressort que les extraits à l'acétate d'éthyle, de la plante entière, des rameaux feuillés et des fleurs renferment les meilleures teneurs en antioxydants totaux. *G. maderaspatana*, renferme une variété de métabolites secondaires dont les teneurs varient selon l'organe.

Mots clés : *Grangea maderaspatana*, différents organes, phytochimique, antioxydants totaux.

Phytochemical Screening, Total Phenolics Content and Antioxydants Potential of Different parts of *Grangea maderaspatana* from Burkina Faso

Abstract

This work is a contribution to a better use of *Grangea maderaspatana* (Asteracea) as a medicinal plant for its chemicals. Extracts of different parts of *Grangea maderaspatana* were thus screened for their chemicals, including phenolics, tannins and flavonoids contents and total antioxidant contents.

The extracts were obtained from the roots, flowers, leafy branches and the whole plant using hexane, dichloromethane, ethyl acetate and methanol. The chemical screening was carried out by means of thin layer chromatography, colorimetric and precipitation reactions. The contents of the different secondary metabolites were evaluated by spectrophotometric methods. The phytochemical screening revealed that *G. maderaspatana* different parts contained phenolics, tannins, flavonoids, alkaloids, sterols and terpenes at different content. Total phenolics contents ranged from 0.051 to 93.455 mg GAE/g of extract in dichloromethane extract of leafy branches and in the ethyl acetate extract of flowers, respectively. Those of total flavonoids ranged from 82.984 in the roots methanolic extract to 753.337 mg QE/g in the ethyl acetate extract of flowers. Total antioxidant contents, assessed by DPPH[•], FRAP and ABTS^{•+} methods are highest in ethyl acetate extracts compared to others extraction solvents.

Keywords : *Grangea maderaspatana*; different organs; phytochemicals; total antioxidants

Introduction

Les plantes sont connues pour leur capacité à produire des substances bioactives. Ces substances sont en général des métabolites secondaires, dont les plus reconnus sont entre autres les tanins, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les stérols, les terpènes. Ces différents groupes de composés sont de plus en plus recherchés par les industries agroalimentaires, pharmaceutiques et cosmétologiques [1] à cause de leurs multiples propriétés biologiques, notamment leurs propriétés antioxydantes. L'intérêt porté sur ces molécules naturelles aux propriétés antioxydantes est surtout dû au fait que les antioxydants de synthèses sont remis en cause pour des raisons de risque de toxicité. Dans les végétaux supérieurs, ces métabolites secondaires peuvent se retrouver dans les différents organes (feuilles, fleurs, racines, tiges) à des teneurs variables.

Grangea maderaspatana est une plante aromatique traditionnellement utilisée pour traiter plusieurs pathologies : douleurs oculaires et auditives, céphalées[2], paralysie, hépatites, douleurs musculaires et articulaires[3]. Ces

racines seraient un apéritif, astringent à l'intestin, diurétique, anthelminthique, emménagogue et galactagogue[3][4].

Des travaux scientifiques ont montré que *G. maderaspatana* possède de nombreuses propriétés pharmacologiques notamment analgésiques, diurétiques [5][6], hépatoprotecteur [7], anti-nociceptives, anti-inflammatoires, antirhumatismales[2][8], anti-anxiétés, anticancéreuses du sein [9]. L'huile essentielle de la plante s'est révélée être une bonne source d'antioxydants avec d'excellentes propriétés antimicrobiennes[10][11].

Malgré les multiples propriétés attribuées à cette plante, peu de travaux, à notre connaissance, ont été rapportés quant à l'étude phytochimique et à l'évaluation des propriétés antioxydantes des extraits des différents organes de la plante acclimatée au Burkina Faso. Ce présent travail est donc une contribution à une meilleure connaissance de cette plante acclimatée au Burkina Faso ; il a pour objectif de faire une étude phytochimique et une évaluation des activités antioxydantes des extraits des différents organes de *G. maderaspatana* en vue de sa valorisation comme source naturelle d'antioxydants.

Matériel et méthodes

. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des organes de *G. maderaspatana* (fleurs, racines, rameaux feuillés) et de la plante entière. La plante est récoltée à Ouagadougou, précisément aux abords du barrage N°2 de ladite ville. Les fleurs, les racines et les rameaux feuillés sont séparés, séchés à l'abri de la lumière puis réduits en poudre.

. Méthodes

Préparation des extraits

Les extraits sont obtenus par épuisement successif en utilisant des solvants de polarité croissante : hexane, dichlorométhane, acétate d'éthyle et méthanol. En effet, 100 g de chaque organe sont macérés avec des quantités suffisantes de solvants afin d'éviter l'effet de saturation. Toutes les extractions sont répétées en triple. Les filtrats sont réunis et concentrés à l'évaporateur rotatif jusqu'au minimum de volume sous pression réduite à la température de 35°C. Ensuite, les extraits concentrés sont transvasés dans des boîtes de pétri et séchés à l'étuve à 37 °C. Ainsi, seize (16) extraits bruts ont été obtenus, dont quatre pour chaque partie de la plante.

Screening phytochimique

Les différents extraits obtenus sont redissouts dans leurs solvants d'extraction. Les extraits ainsi préparés ont fait l'objet d'un criblage phytochimique en utilisant les méthodes décrites par Wagner et al[12]. Les composés recherchés sont les flavonoïdes, tanins, alcaloïdes, saponosides, stérols et terpènes.

Teneurs en polyphénols totaux

Les teneurs en polyphénols totaux (PPT) des extraits ont été déterminées par la méthode décrite par Singleton et Rossi[13] utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu.

Dans cette méthode, 60 µL du réactif de Folin-Ciocalteu (RFC) sont ajoutés à 60 µL d'extrait convenablement dilué. Le mélange est laissé à la température ambiante pendant huit minutes pour permettre la réaction complète du RFC sur les substances oxydables ou sur les phénolates. Puis 120 µL d'une solution de Na_2CO_3 à 7,5 % sont ajoutés pour neutraliser le réactif résiduel. Les absorbances sont mesurées à 760 nm avec un lecteur microplaque (spectrophotomètre MP96, SAFAS) après incubation à 37 °C pendant 30 minutes. Les résultats, déterminés à partir de l'équation d'une courbe d'étalonnage ($y = 21,298x + 0,354$; $R^2 = 0,9956$) établie à partir de l'acide gallique pris comme référence, ont été exprimés en mg d'Equivalent d'Acide Gallique par gramme d'extrait (mg EAG/ g).

2.1.4. Teneurs en flavonoïdes totaux

Les teneurs en flavonoïdes totaux des extraits ont été évaluées selon la méthode colorimétrique décrite par Zhishen et al.[14]. 50 µL des extraits convenablement dilués sont mélangés à 150 µL d'eau bi-distillée, suivis de 15 µL de $NaNO_2$ à 5 % (m/v). 5 min après, 15 µL d'une solution de trichlorure d'aluminium 10 % (m/v) y sont ajoutés. L'ensemble est incubé à la température ambiante pendant 6 min. On y ajoute 50 µL d'une solution d'hydroxyde de sodium 1 N et l'absorbance du mélange, de couleur rosâtre, est mesurée à 510 nm à l'aide d'un lecteur microplaque (spectrophotomètre MP96, SAFAS). Une courbe d'étalonnage a été établie en utilisant la quercétine comme référence suivant le même mode opératoire que l'échantillon. Les teneurs en flavonoïdes des extraits, exprimée en mg d'Equivalent de Quercétine par gramme d'extrait, sont obtenues en rapportant les absorbances lues sur la courbe d'étalonnage ($y = 0,7932x + 0,0025$; $R^2 = 0,9958$).

2.1.5. Teneurs en antioxydants totaux

Les teneurs en antioxydants totaux ont été évaluées par trois méthodes : le test au DPPH[·], le test à l'ABTS^{·+} et le pouvoir de réduction de l'ion ferrique (FRAP)

2.1.5.1. Test au DPPH[·]

Les teneurs en antioxydant ont été déterminées par la méthode décrite par Lamien-Meda et al [15]. Le radical DPPH[·] est dissout dans du méthanol pour obtenir une solution à $10^{-4} \text{ mol. L}^{-1}$ (2 mg/50 mL). Le mode opératoire consiste à mélanger 50 μL d'extraits convenablement dilués avec 200 μL de la solution méthanolique de DPPH[·]. Le mélange est agité puis conservé à température ambiante et à l'abri de la lumière. Les absorbances sont lues à 517 nm au spectrophotomètre microplaque (spectrophotomètre MP96, SAFAS) dix (10) minutes après incubation. Les absorbances lues sont rapportées à la courbe d'étalonnage ($y = -18,685x + 0,6782$; $R^2 = 0,9932$) préalablement établie avec le trolox comme antioxydant de référence. Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent de trolox par gramme d'extrait (mg d'ET/g). Toutes les mesures ont été réalisées trois fois.

2.1.5.2. La méthode FRAP

La méthode utilisée ici est celle décrite par Pulido et al [16]. Dans cette méthode, un sel ferrique, le Fe (III) (TPTZ)₂Cl₃ (TPTZ = 2,4,6-tripyridyl-s-triazine) est utilisé comme oxydant. Le mode opératoire consiste à mélanger 20 μL d'extraits convenablement dilués avec 30 μL d'eau distillée puis on ajoute 200 μL du réactif FRAP. L'absorbance de la coloration bleue intense du mélange est mesurée à 595 nm avec le lecteur microplaque (spectrophotomètre MP96, SAFAS) 10 minutes après incubation à la température ambiante. Mais avant, une courbe d'étalonnage ($y = 20,062x + 0,2805$; $R^2 = 0,9965$) a été établie en utilisant le trolox comme antioxydant de référence. Les valeurs des absorbances lues ont été rapportées à l'équation de la courbe d'étalonnage et les résultats ont été exprimés en milligramme d'équivalent de trolox par gramme d'extrait (mg d'ET/g). Toutes les mesures sont répétées trois fois.

2.1.5.3. Test à l'ABTS^{·+}

La méthode décrite par Miller et Rice-Evans [17] est celle utilisée. Le trolox est utilisé comme antioxydant de référence. Une courbe d'étalonnage a d'abord été établie. A 50 μL de chaque extrait convenablement dilué sont ajoutés 200 μL de la solution d'ABTS^{·+}. Le mélange est agité et gardé à la température ambiante à l'abri de la lumière. La décroissance des absorbances est mesurée à 734 nm en utilisant le spectrophotomètre microplaque (spectrophotomètre MP96, SAFAS). Les teneurs en antioxydants des extraits sont déterminées en rapportant les absorbances à l'équation de la courbe d'étalonnage ($y = -18,196x + 0,3455$; $R^2 = 0,9967$) préalablement établie à partir du trolox pris comme standard. Ainsi, les résultats sont exprimés en milligramme (mg) d'équivalent de trolox par gramme d'extrait (mg d'ET/g). Toutes les mesures ont été réalisées en triple.

2.1.5.4. Analyses statistiques

L'analyse des données quantitatives a été réalisée à l'aide du logiciel IBM SPSS Statistics version 25.0.0. Les expériences sur les dosages des extraits ont été réalisées en triple. Les résultats ont été exprimés sous la forme moyenne \pm écart type. Les valeurs de $p < 0,005$ sont considérées statistiquement significatives.

Résultats et discussion

3.1. Screening phytochimique

Les résultats du criblage chimique sont consignés dans le tableau 1. Il ressort que les flavonoïdes, les stérols et terpènes sont présents dans tous les extraits. En revanche, les saponosides sont absents dans tous les extraits. En ce qui concerne les alcaloïdes, leur présence est variable d'une fraction à une autre et d'un organe à un autre. Les tanins sont présents dans les fractions au méthanol, à l'acétate d'éthyle et au dichlorométhane de toutes les parties excepté l'extrait au dichlorométhane des racines. Ces travaux corroborent ceux de Tanvi et *al.* [18] [19] en Inde et de Dabiré et *al.* [11] au Burkina Faso, qui au cours d'une investigation phytochimique ont respectivement mis en évidence la présence de tanins, de flavonoïdes, de stérols et terpènes dans les extraits des rameaux feuillés et de la plante entière. Contrairement à Tanvi, les travaux de Dabiré et *al.* [11] corroborant les nôtres, ont indiqué la présence d'alcaloïdes dans les rameaux feuillés de la plante acclimatée au Burkina Faso. Ces résultats suggèrent que tous les extraits obtenus posséderaient des propriétés antioxydantes significatives surtout celles à l'acétate d'éthyle eu égard de ses richesses en composés phénoliques. La présence de ces différents métabolites secondaires pourrait justifier les propriétés thérapeutiques attribuées à la plante. De même, la présence particulière des alcaloïdes dans nos extraits conférerait une activité biologique particulière à la plante acclimatée.

Des études antérieures ont été menées sur les rameaux feuillés et la plante entière [18] [19]. La présente prend en compte toutes les parties de *G. maderaspatana* obtenues séparément. Ainsi, à notre connaissance elle serait rapportée pour la première fois.

Tableau 1 : Groupes chimiques recherchés dans les fractions des différents organes de *G. maderaspatana*

Organe Végétal	Extraits	Groupes chimiques mis en évidence				
		Tanins	Flavonoïdes	Alcaloïdes	Saponosides	Stérols-terpènes
Plante entière	Hexane	-	+	+	-	+
	DCM	+	+	-	-	+
	Ac.Et	+	+	+	-	+
	MeOH	+	+	-	-	+
Rameaux Feuillés	Hexane	-	+	+	-	+
	DCM	+	+	+	-	+
	Ac.Et	+	+	-	-	+
	MeOH	+	+	+	-	+
Fleurs	Hexane	-	+	+	-	+
	DCM	+	+	+	-	+
	Ac.Et	+	+	+	-	+
	MeOH	+	+	-	-	+
Racines	Hexane	-	+	-	-	+
	DCM	-	+	+	-	+
	Ac.Et	+	+	-	-	+
	MeOH	+	+	-	-	+

- : absence ; + : présence

3.2. Teneurs en polyphénols totaux (PPT)

Les valeurs des teneurs en PPT sont consignées dans le tableau 2. L'analyse statistique montre que les teneurs en polyphénols totaux varient significativement ($p < 0,05$).

L'analyse des résultats du tableau 2 montre que les extraits renferment des teneurs plus ou moins importantes en PPT et ce, suivant le solvant d'extraction et l'organe. Ces teneurs varient de 0,051 mg d'EAG/g dans l'extrait au dichlorométhane des rameaux feuillés à 93,455 mg d'EAG/g dans l'extrait à l'acétate d'éthyle des fleurs. Les extraits à l'acétate d'éthyle enregistrent les teneurs les plus élevées aussi bien dans les organes que dans la plante entière (figure 4). La seconde position est occupée par les extraits méthanoliques. Parmi les extraits à l'acétate d'éthyle, celle des fleurs détient la plus forte teneur (93,455 mg d'EAG/g) et les rameaux feuillés enregistrent la plus faible (57,921 mg d'EAG/g). Dans les extraits au méthanol, la plante entière possède la plus forte teneur et les rameaux feuillés possèdent la plus faible. Pour plus de composés phénoliques, il est préférable d'utiliser les fleurs que la plante entière.

Tableau 2 : Teneurs en polyphénols totaux (PPT) des extraits de *G.maderaspatana*

Extrait	Teneur en PPT (mg EAG) /g d'extrait			
	Plante entière	Rameaux feuillés	Fleurs	Racines
Hexane	12,113±0,019 ^{cde}	7,506±0,287 ^{bc}	4,536±0,066 ^{ab}	4,442±0,075 ^{ab}
DCM	0,063± 0,001 ^a	0,051±0,001 ^a	8,996±0,248 ^{bcd}	7,600± 0,646 ^{bcd}
Ac. Ethyle	59,198±1,479 ^g	57,921±0,075 ^g	93,455± 4,958 ^h	61,602±3,261 ^g
MeOH	26,974±2,155 ^f	12,260±0,047 ^{cde}	12,798±0,254 ^{de}	15,860±0,707 ^e

Les moyennes de chaque colonne suivies par une lettre différente sont significativement différentes ($p < 0,05$).

3.3. Teneurs en flavonoïdes totaux (TFT)

Les teneurs en flavonoïdes totaux sont regroupées dans le tableau 3. Ces teneurs sont statistiquement significatives ($p < 0,05$) et variables selon l'organe et le solvant d'extraction. Elles varient de 82,984 dans l'extrait méthanolique des racines à 753,337 mg EQ/g dans l'extrait à l'acétate d'éthyle des rameaux feuillés. Ces résultats montrent que les extraits à l'acétate d'éthyle sont les plus riches en flavonoïdes. En effet, l'extrait des fleurs possède la teneur la plus élevée avec 753,337 mg EQ/g, suivie par les rameaux feuillés qui ont une teneur de 681,795 mg EQ/g, tandis que la plante entière possède la teneur la plus faible avec 474,701 mg EQ /g.

Tableau 3: Teneurs en flavonoïdes totaux (TFT) des extraits de *G. maderaspatana*

Extrait	Teneur en flavonoïdes totaux en (mg EQ) /g d'extrait			
	Plante entière	Rameaux feuillés	Fleurs	Racines
Hexane	196,672±10,086 ^{ef}	144,982±12,607 ^{cd}	138,678±5,043 ^{bc}	109,472±5,685 ^{ab}
DCM	165,406±6,051 ^{cde}	207,766±20,171 ^f	191,629±4,034 ^{ef}	156,665±14,168 ^{cd}
Ac. Ethyle	474,701±18,633 ^g	681,795±8,068 ⁱ	753,337±12,111 ^j	641,45±8,068 ^h
MeOH	176,10±3,557 ^{def}	147,571±11,521 ^{cd}	155,705±8,703 ^{cd}	82,984±1,824 ^a

Les moyennes de chaque colonne suivies par une lettre différente sont significativement différentes ($p < 0,05$).

Au vu des résultats obtenus, il est à remarquer que les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux varient en fonction du solvant utilisé et de l'organe végétal. Des observations similaires ont été rapportées dans d'autres travaux. En effet, en travaillant sur l'influence des solvants sur le contenu en polyphénols totaux des extraits de *Rhanterium adpressium*, Hamia et al. [20] ont constaté que la quantité en phénols totaux est variable d'un système de solvant à un autre et d'un extrait à un autre.

En ce qui concerne nos travaux, les extraits à l'acétate d'éthyle enregistrent les teneurs les plus élevées en polyphénols et flavonoïdes totaux. Les secondes positions sont occupées par les extraits méthanoliques pour les polyphénols totaux. Ces résultats sont en accord avec la littérature. En effet, dans une extraction liquide-liquide par des solvants non miscibles à l'eau, l'acétate d'éthyle entraîne la majorité des hétérosides [21]. Des résultats similaires ont été rapportés par certains auteurs qui ont évoqué le fait que le système d'extraction influence les teneurs en polyphénols totaux. Ainsi, en dosant les polyphénols totaux dans des variétés d'oignon (*Allium cepa* L.), Rasmané et al. [22] ont montré que les fractions à l'acétate d'éthyle contenaient les plus fortes teneurs en polyphénols totaux par rapport à l'éthanol/eau (70/30) et acétone/eau (80/20). Les travaux de Hamia et al. [20] portant sur le dosage des phénols et flavonoïdes totaux dans les extraits de *Rhanterium adpressium* ont montré que ce sont les fractions à l'acétate d'éthyle qui contiennent les plus fortes teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux par rapport aux fractions chloroformiques, hexaniques et butanoliques.

Nous remarquons que les teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux sont fonctions du solvant d'extraction et inégalement répartis dans les organes. Cette inégale répartition a été rapportée par des auteurs [23]. Les parties aériennes présentent de fortes teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux. Cela s'expliquerait par le fait que les rameaux feuillés et les fleurs sont les plus exposés à l'ensoleillement. En effet, les flavonoïdes assurent la protection des tissus de la plante contre les effets nocifs du rayonnement solaire [24]. Cela pourrait être lié aux conditions climatiques dures des endroits où elles poussent (température élevée, grande exposition au soleil, sécheresse et salinité) qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires comme les polyphénols [25]. Peu de données bibliographiques concernant la teneur en polyphénols et flavonoïdes totaux sur les extraits de *G.maderaspatana* sont disponibles. Néanmoins, quelques travaux plus ou moins récents ont été rapportés. Ainsi, les travaux de Bationo et al [26]. indiquent une teneur de l'ordre de 194,554 mg EAG/g d'extrait dans une fraction

méthanolique des rameaux feuillés ; Ce qui est largement supérieur à la nôtre qui est de l'ordre de 12,260 mg EAG/g d'extrait. Dabiré et al [11] ont également déterminé les teneurs en polyphénols dans les rameaux feuillés de *G.maderaspatana* des extraits obtenus à partir des solutions hydroalcooliques (éthanol 30 %, 60 %, 96 %) et par la décoction. Ils obtiennent respectivement les teneurs de 0,919 ; 0,839 ; 0,271 ; 2,013 en mg EAG/ g de matériel végétal. Aussi, Kaushal et al [27] ont enregistré une teneur de 121,45 mg EAG/g de matériel végétal dans l'extrait méthanolique de la plante entière. Cependant, Il est difficile de faire une comparaison rigoureuse à cause de la différence des méthodes d'extractions.

Ces différents résultats pourraient aussi montrer que plusieurs facteurs influents sur la teneur en polyphénols totaux. Des études ont montré que des facteurs extrinsèques tels que les facteurs climatiques et géographiques, les facteurs génétiques, également le degré de maturation et la durée de stockage ont une influence considérable sur le contenu en polyphénols [20].

Ces résultats corroborent le screening phytochimique et montrent que les différentes fractions des organes *G.maderaspatana* renferment d'importantes quantités de polyphénols et de flavonoïdes surtout celles à l'acétate d'éthyle particulièrement celles des fleurs et des racines. Cette plante pourrait constituer une source potentielle de composés phénoliques et ses fractions à l'acétate d'éthyle devraient présenter de meilleures activités antioxydantes.

3.4.3. Teneurs en Antioxydants Totaux (TAO)

Les résultats des teneurs en antioxydants totaux sont consignés dans le tableau 6. L'analyse statistique montre que les teneurs en antioxydants totaux varient significativement ($p < 0,05$) d'un organe à un autre et d'un extrait à un autre. Ces résultats montrent que pour la plante entière, les teneurs varient de 0,320 avec l'extrait hexanique à 10,068 mg d'ET/g avec l'extrait à l'acétate d'éthyle par la méthode ABTS. Par la méthode DPPH, elles sont comprises entre 3,615 et 24,393 mg d'ET/g respectivement pour l'extrait hexanique et celui à l'acétate d'éthyle. Par la méthode FRAP, les teneurs varient entre 3,376 avec l'extrait hexanique à 111,973 mg d'ET/g avec l'extrait à l'acétate d'éthyle. En ce qui concerne les rameaux feuillés, par la méthode DPPH, les teneurs sont comprises entre 1,254 avec l'extrait hexanique et 13,209 mg d'ET/g avec l'extrait à l'acétate d'éthyle. On enregistre des teneurs comprises entre 3,987 et 88,844 mg d'ET/g respectivement pour l'extrait au DCM et celui à l'acétate d'éthyle par la méthode FRAP. Par la méthode ABTS, elles sont entre 0,458 pour la fraction au DCM et 8,309 pour l'extrait à l'acétate d'éthyle. Pour ce qui est des fleurs de *G.maderaspatana*, il ressort que par la méthode DPPH, les teneurs varient de 2,669 avec l'extrait au DCM à 10,698 mg d'ET/g avec l'extrait à l'acétate d'éthyle. Par la méthode FRAP, elles sont comprises entre 5,184 et 72,468 mg d'ET/g respectivement pour l'extrait hexanique et l'extrait à l'acétate d'éthyle. La méthode ABTS révèle que ces teneurs sont entre 2,022 pour l'extrait au DCM et 12,618 mg d'ET/g pour l'extrait à l'acétate d'éthyle.

Les teneurs en antioxydants totaux dans les racines sont également fonctions des extraits et des méthodes utilisées. En effet, par la méthode DPPH, ces teneurs varient de 3,341 pour l'extrait hexanique à 12,325 mg d'ET/g pour l'extrait à l'acétate d'éthyle. Par la méthode FRAP, elles sont comprises entre 6,513 pour l'extrait au DCM et 92,566 mg d'ET/g pour celui à l'acétate d'éthyle. Par la méthode ABTS, elles varient entre 1,165 et 12,003 mg d'ET/g respectivement pour l'extrait au DCM et celui à l'acétate d'éthyle.

Par les trois méthodes et pour les organes, les teneurs des extraits hexaniques ou au DCM sont les plus faibles tandis que ceux à l'acétate d'éthyle sont les plus élevées. Ces résultats sont en accord avec ceux ci-dessus (screening phytochimique et teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux dans les extraits à l'acétate d'éthyle). Par les méthodes DPPH et FRAP, les meilleures teneurs sont constatées avec la plante entière tandis que par la méthode ABTS, elles sont élevées avec les fleurs. En comparant les teneurs des extraits à l'acétate d'éthyle des différents organes, on remarque que les rameaux feuillés possèdent la plus forte teneur par la méthode DPPH tandis que par la méthode FRAP, la teneur la plus élevée est observée avec les racines. Par la méthode ABTS, ceux sont les fleurs qui ont la meilleure teneur.

Comme les résultats l'indiquent, tous les extraits présentent une activité antioxydante variable. Cependant, tous sont capables de réduire les radicaux libres et les ions ferriques. Ces travaux corroborent ceux de Varsha et al. [28] et Kaushal et al. [27] en Inde qui ont montré que les extraits méthanoliques de la plante présente une activité antioxydante significative. Toutefois, il est difficile de faire une rigoureuse comparaison avec nos travaux car les méthodes d'extraction de ces auteurs sont différentes des nôtres.

Au regard des activités élevées dans les extraits à l'acétate d'éthyle face au radical *DPPH*, on pourrait croire que celles-ci contiennent des molécules ayant de faibles poids moléculaires qui ont facilement accès au site du radical *DPPH*. En effet, Noruma et al. [29] ont évoqué la difficulté qu'ont les grosses molécules à accéder au site du radical, eu égard de l'encombrement stérique constaté dans la structure du radical. Ainsi, les petites molécules

accèdent aisément au site du radical *DPPH*, ce qui leur confère une activité plus élevée comparé aux grosses molécules.

L'activité observée par la méthode FRAP indiquerait la présence de composés donneurs d'électrons dans les extraits étudiés, entraînant la réduction des ions ferriques en ions ferreux par les antioxydants. Selon Kumaran et al. [30], le pouvoir réducteur d'un composé peut servir d'indicateur significatif de son potentiel antioxydant. C'est pourquoi, tous les extraits étudiés possèdent une activité antioxydante.

De ces résultats, nous retenons que les extraits à l'acétate d'éthyle sont les plus riches en antioxydants et ses teneurs varient d'un organe à l'autre.

Tableau 6: Teneurs en antioxydants totaux (TAO)

Matériel végétal	Extraits	Teneurs en antioxydants totaux (mg ET/g d'extrait)		
		DPPH	FRAP	ABTS
Plante entière	Hexane	3,615±0,285 ^b	3,376±0,184 ^a	0,320±0,032 ^{ab}
	DCM	5,811±0,215 ^c	8,055±0,422 ^a	0,755±0,025 ^{bc}
	Ac. Ethyle	24,393±0,178 ⁱ	111,973±5,742 ^d	10,068±0,264 ^g
	MeOH	19,149±0,264 ^h	21,708±2,074 ^b	3,324±0,051 ^e
Rameaux feuillés	Hexane	1,254±0,067 ^a	8,374±0,319 ^a	ND
	DCM	5,338±0,528 ^c	3,987±0,079 ^a	0,458±0,033 ^{ab}
	Ac. Ethyle	13,209±0,332 ^g	88,844±5,104 ^d	8,309±0,152 ^f
	MeOH	11,355±0,894 ^{ef}	25,043±1,047 ^b	2,529±0,077 ^d
Fleurs	Hexane	5,25±0,267 ^c	5,184±0,159 ^a	ND
	DCM	2,669±0,082 ^b	5,264±0,079 ^a	2,022±0,176 ^d
	Ac. Ethyle	10,698±0,108 ^e	72,468±1,328 ^c	12,618±0,577 ⁱ
	MeOH	8,289±0,473 ^d	24,853±1,334 ^b	2,327±0,195 ^d
Racines	Hexane	3,341±0,157 ^b	20,416±1,276 ^b	ND
	DCM	4,867±0,041 ^c	6,513±0,332 ^a	1,165±0,088 ^c
	Ac. Ethyle	12,325±0,09 ^{fg}	92,566±9,165 ^d	12,003±0,233 ^h
	MeOH	11,286±0,174 ^{ef}	25,718±2,240 ^b	2,282±0,046 ^d

Les moyennes de chaque colonne suivies par une lettre différente sont significativement différentes ($p < 0,05$).

Conclusion

Cette étude a mis en lumière la présence de plusieurs composés notamment les composés phénoliques dont les teneurs sont significatives, les alcaloïdes, stérols et terpènes. Les résultats montrent que les teneurs en antioxydants totaux sont étroitement liées aux teneurs en composés phénoliques. Les extraits à l'acétate d'éthyle des organes de la plante et la plante entière sont les plus actives et présentent considérablement les teneurs les plus élevées en polyphénols et flavonoïdes totaux. Aussi, la composition phytochimique et les teneurs des extraits varient d'un extrait à un autre et d'un organe à un autre. Les organes de *G.maderaspatana* pourraient constituer une source potentielle d'antioxydant naturelle. Des études supplémentaires sont nécessaires pour isoler et identifier les molécules responsables de cette activité antioxydante.

Références bibliographiques :

- I. Togola *et al.*, "Evaluation de la teneur en alcaloïdes totaux à différents stades de développement de *Datura innoxia* Mill., une plante utilisée dans la médecine traditionnelle au Mali," *Am. J. Innov. Res. Appl. Sci.*, vol. 9, no. 2, pp. 200–207, 2019.
- P. R. Raxit and J. G. Varsha, "Evaluation of antinociceptive and antirheumatic activity of *Grangea maderaspatana* (L) Poir. using experimental models.," *An Int. Q. J. Res. Ayurveda*, vol. 36, no. 4, pp. 425–31, 2015, doi: 10.4103/0974-8520.190695.
- N. K. Dhal, S. S. Panda, and S. D. Muduli, "Traditional uses of medicinal plants by native people in Nawarangpur district, Odisha, India.," *Asian J. Plant Sci. Res.*, vol. 5, no. 2, pp. 27–33, 2015.
- N. A, *Indian material medical*. Bombay: popular prakashan, 1976.
- A. M, I. MM, H. CF, and K. OF, "A preliminary study on the analgesic activity of *Grangea maderaspatana*," *Fitoterapia*, vol. 72, no. 5, pp. 553–554, 2001.
- H. C. Ahmed M, Islam MM, "Diuretic activity of *Grangea maderaspatana*," *Dhaka Univ J Biol Sci*, vol. 10, pp. 215–218, 2001.
- O. N, B. R, K. A, and J. S, "Hepatoprotective potential of *Grangea maderaspatana* Poir. against CCl₄ and paracetamol induced toxicity in male albino wistar rats," *Int J Phytother Res*, vol. 2, pp. 24–31, 2012.

- C. FR *et al.*, “Diterpenes from *Grangea maderaspatana*,” *Phytochemistry*, vol. 131, pp. 124–129, 2016.
- R. B. and K. K. Siriphorn Chimplee, Potchanapond Graidist, Theera Srisawat, Suchada Sukrong, “Anti breast cancer potential of frullanolide from *Grangea maderaspatana* plant by inducing apoptosis,” *Oncol. Lett.*, pp. 5283–5291, 2019, doi: doi.org/10.3892/ol.2019.10209.
- A. P. Darshan Singh Kamboj, Chandra Shekhar Mathela, Veena Pande, “antioxidant and antimicrobial activity of *grangea maderaspatana* (L.) Poir. Extract,” *J. Drug Discov. Ther.*, vol. 1, no. 7, pp. 46–52, 2013.
- C. M. Dabiré, “Composition chimique des huiles essentielles et propriétés antioxydantes de quelques plantes aromatiques de Burkina Faso,” *Univ. Ouagadougou*, pp. 1–177, 2011.
- H. Wagner and S. Bladt, *Plant drug analysis*, Second edi. Munich, 1996.
- J. . Singleton, V.L., and Rossi, Jr., “Colorimétrie de total phénolique with phosphomolybdic acid reagent,” *Am. J. Enol. Vitic*, vol. 16, pp. 144–158, 1965.
- Z. J. M. T, and J. W., “The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals,” *Food Chem.*, vol. 64, pp. 555–559, 1999.
- A. Lamien-meda *et al.*, “Polyphenol Content and Antioxidant Activity of Fourteen Wild Edible Fruits from Burkina Faso,” *Molecules*, vol. 13, pp. 581–594, 2008, doi: 10.3390/molecules13030581.
- P. R, B. L, and S.-C. F, “Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay,” *J Agric Food Chem*, vol. 48, pp. 3396–3402, 2000.
- N. J. Miller, A. T. Diplock, C. Rice-Evans, M. J. Davies, V. Gopinathan, and A. Milner, “A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates,” *Clin. Sci*, vol. 84, pp. 407–412, 1993.
- T. Dodiya and V. Jain, “Evaluation of anti-anxiety activity of *Grangea maderaspatana* (L.) Poir. Extracts in experimental animals,” *Int J Ayu Pharm Chem*, vol. 6, no. 1, pp. 53–60, 2017.
- T. Dodiya and V. Jain, “Pharmacognostic, physicochemical and phytochemical investigation of *Grangea maderaspatana*,” *J. Phytopharm.*, vol. 6, no. 6, pp. 359–363, 2017.
- C. Hamia *et al.*, “Influence des solvants sur le contenu en composés phénoliques et l’activité antioxydante des extraits du *Rhanterium adpressium*,” *Ann. des Sci. Technol.*, vol. 6, no. 1, pp. 33–39, 2014.
- J. Bruneton, *Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales*, 2ème édit. Paris: Lavoisier Techniques & Documentation, 1993.
- R. A. Ouedraogo *et al.*, “Teneur en phénols totaux et activité antioxydante des extraits des trois principales variétés d’oignons (*Allium cepa* L.) cultivées dans la région du Centre-Nord du Burkina Faso,” *Int. J. Biol. Chem. Sci*, vol. 9, no. 1, pp. 281–291, 2015.
- N. L. Gehin A, Guyon C, “Glyphosate-induced antioxidant imbalance in HaCaT: The protective effect of Vitamins C and E,” *Env. Toxicol Pharmacol*, vol. 22, pp. 27–34, 2006.
- G. A, G. C, and N. L, “Glyphosate-induced antioxidant imbalance in HaCaT: The protective effect of Vitamins C and E,” *Env. Toxicol Pharmacol*, vol. 22, pp. 27–34, 2006.
- C. Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bourouai, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, “Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities,” *C. R. Biol.*, vol. 331, pp. 372–379, 2008.
- B. Rémy, “Analyse chimique et activités antioxydantes de quatre plantes médicinales acclimatées au Burkina Faso,” *Univ. Joseph Ki-Zerbo*, pp. 1–47, 2013.
- K. K. Chandrul and B. Singh, “Pharmacognostical, Phytochemical and pharmacological profile of *Grangea maderaspatana* (L.) Poir-an inclusive review,” *World J. Pharm. Res.*, vol. 4, no. 11, pp. 423–436, 2015.
- J. G. Varsha and P. R. Raxit, “*Grangea maderaspatana* (L.) Poir.- A Comprehensive review,” *Innoriginal Int. J. Sci.*, vol. 2, no. 3, pp. 5–8, 2015.
- T. Noruma, M. Kikuchi, and Y. Kawakami, “Proton-donative antioxidant activity of fucoxanthin with 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH),” *Biochem. Mol. Biol. Int*, vol. 42, pp. 361–370, 1997.
- A. Kumaran and R. J. Karunakaran, “In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India,” *LWT-Food Sci. Technol.*, vol. 40, no. 2, pp. 344–352, 2007.

Approche métabolomique chez les patients hypertendus révélant un dimorphisme sexuel

Yaya Goïta, Juan Manuel Chao de la Barca, Asmaou Keita, Boubacar SI Dramé, Delphine Mirebeau-Prunier, Bakary Mamadou Cissé, Gilles Simard, Pascal Reynier

ahamedyaya@hotmail.fr

Résumé :

Introduction : L'hypertension artérielle est un problème majeur de santé publique **Objectif:** appliquer une approche de métabolomique ciblée, afin de rechercher une signature biologique propre à l'hypertension artérielle **Méthodes:** Nous avons comparé les profils métabolomiques plasmatiques de femmes et d'hommes souffrant d'hypertension artérielle essentielle avec ceux de groupes témoins de femmes et d'hommes, en utilisant la métabolomique ciblée. **Résultats:** Un modèle multivarié prédictif (OPLS-DA) a montré une bonne performance prédictive de l'hypertension chez les deux sexes ($Q^2_{cum} = 0,60$ chez les hommes et $0,59$ chez les femmes). Soixante-quinze (49 % des métabolites mesurés avec précision) et 66 (43 %) métabolites discriminants avec une $VIP > 1$ ont été mis en évidence chez les femmes et les hommes, respectivement. Une analyse univariée après correction a montré que la concentration de 17 métabolites chez les hommes et de 52 métabolites chez les femmes différait significativement par rapport à leurs témoins normotendus. Les deux sexes ont montré une augmentation massive des concentrations plasmatiques de phosphatidylcholines, la diminution des C16:0 et l'augmentation des C28:1 lysophosphatidylcholines, l'augmentation de la sphingomyéline, ainsi que celles de la diméthylarginine symétrique (SDMA), de la DMA totale, de l'acétyl-ornithine et de l'hydroxyproline. Vingt-neuf signatures métabolites ont montré un dimorphisme sexuel discriminant de l'hypertension. Outre la signature commune du SDMA et du DMA total, impliqués dans la perturbation de la voie arginine/oxyde nitrique (NO) et dans l'augmentation du risque cardiovasculaire, d'autres métabolites liés à cette voie (arginine, citrulline, spermine, ornithine, spermidine) ont montré un dimorphisme sexuel. Les femmes présentaient aussi spécifiquement une augmentation des biomarqueurs d'insulinorésistance (acylcarnitines à chaîne moyenne, amino-leucine et isoleucine ramifiées et alpha-aminoadipate), malgré l'absence de diabète avéré, ainsi qu'une augmentation de divers métabolites qui auraient des propriétés antihypertensives. **Conclusion:** L'hypertension artérielle est à l'origine d'une signature métabolomique dans le plasma, caractérisée par un important dimorphisme sexuel.

Mots clefs: Métabolomiques, Métabolites, Hypertension artérielle

Metabolomic approach in hypertensive patients revealing sexual dimorphism

Abstract

Introduction: Hypertension is a major public health problem in sub-Saharan Africa **Objective:** to apply a targeted metabolomics approach to search for a biological signature specific to hypertension. **Methods:** We compared the plasma metabolomic profiles from women and men with essential arterial hypertension with that of control groups women and men, using targeted metabolomics. **Résultats:** Supervised OPLS-DA showed good predictive performance for hypertension in both sexes ($Q^2_{cum} = 0.60$ in men and 0.59 in women) with low risk of overfitting (p -value-CV ANOVA = 0.004 in women in men. Seventy-five (49% of the metabolites accurately measured) and 66 (43%) discriminant metabolites with a $VIP > 1$ were evidenced in women and men, respectively. Univariate analysis after correction showed that the concentration of 17 metabolites in men and 52 metabolites in women differed significantly compared to their normotensive controls. Both sexes showed a massive increase of phosphatidylcholines plasma concentrations, the decrease of C16:0 and the increased of C28:1 lysophosphatidylcholines, the increased of sphingomyelin, as well as those of symmetric dimethylarginine (SDMA), total DMA, acetyl-ornithine and hydroxyproline. Twenty-nine metabolites showed discriminant sexual dimorphism of the hypertension signature. In addition to the common SDMA and total DMA signature, involved in disruption of the arginine/nitric oxide (NO) pathway and in increased cardiovascular risk, other metabolites related to this pathway (arginine, citrulline, spermine, ornithine, spermidine) showed a sexual dimorphism. Women also specifically displayed increased biomarkers of insulinresistance (medium-chain acylcarnitines, branched amino leucine and isoleucine and alpha-aminoadipate), despite the absence of proven diabetes, as well as the increase of various metabolites that were reported to disclose antihypertensive properties. **Conclusion:** L'hypertension artérielle est à l'origine d'une signature métabolomique dans le plasma, caractérisée par un important dimorphisme sexuel.

Keywords: metabolomics, métabolites, Arterial Hypertension

Introduction

L'hypertension artérielle (HTA) est définie par une pression artérielle systolique (PAS) ≥ 140 mmHg et/ou une pression artérielle diastolique (PAD) ≥ 90 mmHg. [1]. L'HTA est subdivisée en 3 grades et on distingue l'HTA de grade 1 avec une PAS comprise entre 140 et 159 mmHg et/ou une PAD entre 90 et 99 mmHg, l'HTA de grade 2 caractérisée par une PAS comprise entre 160 et 179 mmHg et/ou une PAD entre 100 et 109 mmHg et l'HTA de grade 3, dite sévère ou quand la PAS est supérieure ou égale à 180 mmHg et/ou quand la PAD est supérieure ou égale à 110 mmHg [1].

L'hypertension artérielle est le premier facteur de risque cardio-vasculaire, mais également d'insuffisance coronarienne constituant un facteur de risque indépendant de l'athérosclérose et son étiologie n'a pas été complètement élucidée, principalement à cause des variations génétiques inconnues et de multiples facteurs non héréditaires [2]. Ceci n'est pas étonnant si l'on considère le nombre de facteurs qui entrent en jeu dans le contrôle de cet important facteur d'hémostase et le fait que la maladie chronique s'établit de façon très progressive sur de nombreuses années, rendant délicates les études cliniques [3]. L'ensemble des mécanismes physiopathologiques évoqués dans l'HTA conduisent à des altérations artérielles. Chez le sujet noir, cette affection est devenue au cours des dernières années un authentique problème de santé publique par sa prévalence et sa morbi-mortalité cardiovasculaire [4]. Les enquêtes [5] suggèrent que la plupart des pays africains présentent des taux de prévalences élevés d'HTA au sein de la population masculine, mais il faut souligner que dans certains pays, le taux de prévalence est plus élevé chez la femme que chez l'homme [6].

Peu de données [7] existent sur les changements biochimiques associés à la transition de l'homéostasie normale du glucose à l'insulino-résistance et à l'HTA d'une part et d'autre part sur l'état métabolomique général du cœur et des vaisseaux. Bien que de nombreux mécanismes physiopathologiques de l'hypertension artérielle aient été élucidés, les connaissances sur des altérations métaboliques individuelles favorisant le développement de l'hypertension essentielle chez les sujets sains ou les sujets aux premiers stades de la maladie sont rares. L'application de la métabolomique pourrait contribuer à combler cette lacune et mieux comprendre la pathogénèse du développement de l'hypertension [8].

En effet, la métabolomique est la science « omique » qui rend le mieux compte des modifications phénotypiques induites dans un système biologique par une morbidité, un traitement, ou tout autre facteur perturbant le système [9]. L'objectif de la métabolomique en médecine est la découverte de biomarqueurs métaboliques des maladies [10]. Cette étude a été instaurée pour identifier les métabolites associés à l'hypertension artérielle en utilisant le kit AbsoluteIDQp180 de Biocrates (www.biocrates.com) qui permet de quantifier 188 métabolites appartenant à six (6) familles différentes (acylcarnitines, acides aminés, amines biogènes, phospholipides, sphingolipides et hexoses). La reconnaissance de l'HTA offre l'opportunité de dépister au niveau individuel l'ensemble des facteurs de risques vasculaires. Cette démarche est indispensable pour situer l'intervention biologique et thérapeutique. L'intérêt thérapeutique attendu étant d'autant plus grand que le risque vasculaire est plus élevé. Cependant, au Mali nous ne disposons pas de données suffisantes sur le sujet et du rapport entre l'HTA d'une part et les paramètres biochimiques et métabolomique d'autre part. Ainsi, l'objectif de la présente étude, est la recherche d'une potentielle signature métabolomique et de nouveaux biomarqueurs susceptibles d'améliorer les performances diagnostiques d'HTA.

I. Matériel et méthodes

1. Matériel

1.1. Aspects éthiques

L'étude a été menée conformément aux normes de l'éthique énoncées dans la Déclaration d'Helsinki (1983) et approuvée par le comité d'éthique de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie (FMPOS) de l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (l'USTTB) suivant le numéro 2016/05/CE/FMPOS du 18 janvier 2016. L'inclusion dans l'étude des participants était conditionnée à la signature de la fiche de consentement éclairée, libre et volontaire déposée au niveau de la commission d'éthique du Mali.

1.2. Cadre et lieu d'étude

L'étude a lieu dans le service de Cardiologie du Centre Hospitalier Universitaire Mère-Enfant le Luxembourg de Bamako. Les collectes de sang des patients HTA et groupes témoins ont été réalisés au laboratoire de biologie médicale du Centre Hospitalier Mère-Enfant le Luxembourg de Bamako.

1.3. Type et période d'étude

C'était une étude cas-témoins qui a inclus 72 individus de plus de 30 ans, dont 36 hypertendus (18 hommes et 18 femmes) et 36 témoins non hypertendus (18 hommes et 18 femmes). Tous les patients hypertendus inclus dans l'étude étaient suivis en ambulatoire ou hospitalisés dans le service de Cardiologie du Centre hospitalier Universitaire Mère-Enfant (CHUME) le Luxembourg de Bamako et avaient une pression artérielle supérieure à 140/90 mmHg. Les sujets témoins ont été sélectionnés parmi les individus accompagnant d'autres patients au CHUME. Le recrutement des participants a été réalisé d'octobre 2017 à mars 2018.

1.4. Population d'étude

1.4.1. Critères d'inclusion

L'étude a concerné tous les patients atteints d'hypertension artérielle âgés de 30 à 60ans. Les sujets témoins ayant accepté de participer à cette étude ont été sélectionnés parmi les individu(e)s non hypertendu(e)s accompagnant les patient(e)s hypertendu(e)s et les volontaires accompagnants d'autres patients au Centre Hospitalier Universitaire Mère-Enfant le Luxembourg (CHUME). Les critères d'inclusion étaient non hypertendu(e)s et ne possédant aucuns facteurs de risques cardiovasculaires. Les tensions artérielles ont été mesurées et des témoins ont confirmé qu'ils étaient à jeun depuis 12 heures avant la prise de sang.

1.4.2. Critères de non inclusion

- Les patient(e)s hypertendu(e)s et les sujets témoins ne répondant pas aux critères d'inclusion et non consentants.
- Les Patients hypertendus et sujets témoins de moins de 30 ans et plus de 60 ans ;
- Les patients hypertendus et les sujets témoins n'ayant aucuns facteurs de risque cardiovasculaire répondant aux critères d'inclusion mais non consentants ;

1.4.3. Collecte des échantillons

Une fiche d'enquête a été élaborée pour chaque patient et est portée en annexe. Les prélèvements sanguins ont été réalisés le matin après 12 heures de jeûne dans des tubes héparinés dans le laboratoire d'analyses médicales du CHUME et centrifugés à +4°C immédiatement pendant 10 minutes à 3000 g et avant récupération du plasma. Les plasmas ont été aliquotés en 1 ml et conservés à -80°C avant leur transport dans la glace au laboratoire de Biochimie et biologie moléculaire du CHU d'Angers, pour y être analysés.

2. Méthodes d'analyses

2.1. Analyse métabolomique

Une analyse métabolomique quantitative ciblée a été réalisée en utilisant le kit Biocrates Absolute IDQ p180 (Biocrates Life Sciences AG, Innsbruck, Autriche). Ce kit utilise la spectrométrie de masse (QTRAP 5500, SCIEX, Villebon-sur-Yvette, France) à quantifier jusqu'à 188 molécules endogènes différentes distribuées comme suit : carnitine libre (C0), 39 acylcarnitines (C), la somme des hexoses (H1), 21 acides aminés, 21 amines biogènes et 105 lipides. Les lipides sont répartis dans le kit dans quatre classes différentes : 14 lysophosphatidylcholines (lysoPC), 38 diacyl-phosphatidylcholines (PC aa), 38 acyl-alkyl phosphatidylcholines (PC ae), et 15 sphingomyélines (SM). La liste complète des Métabolites est disponible sur : <http://www.biocrates.com/products/researchproducts/absoluteidq-p180-trousse>.

Une Analyse par injection de flux couplée à une spectrométrie de masse (FIA/MS/MS) a été utilisée pour l'analyse de la carnitine, acylcarnitines, lipides et hexoses. La Chromatographie en phase Liquide (LC) a été utilisée pour séparer les acides aminés et les amines biogènes avant une quantification par spectrométrie de masse.

La préparation des échantillons et les analyses ont été réalisées en suivant le manuel de l'utilisateur du kit. En bref, chaque échantillon de plasma a été vortexé complètement après décongélation et centrifugé à 4°C pendant 5 minutes à 5000 g.

- Dix microlitres de chaque échantillon ont été mélangés avec un étalon interne marqué par isotope dans une plaque à plusieurs étages et séchés sous un courant d'azote (plaque 96 puits à évaporateur d'azote, Stuart SBM 200 D/3, Stuart, Stone, UK).
- Les métabolites ont ensuite été dérivatisés avec du phénylisothiocyanate (PITC) 5% pendant 20 minutes à température ambiante et ensuite séché pendant 30 minutes sous un flux d'azote.
- L'extraction des métabolites a été faite par ajout de 300 µL d'une solution de 5 mM de l'acétate d'ammonium dans de méthanol puis incubés avec agitation à 450 tours par minute (IKA MS3 digital, Thermo Fisher Scientific, Illkrich, France) pendant 30 minutes à température ambiante, suivi d'une filtration par centrifugation (Hettich Zentrifugen Rotina 380R, Bach, Suisse) pendant 2 minutes à 500 µL.
- Par la suite, 200 µL ont été éliminés du filtrat, transféré à une nouvelle plaque à puits profond multititre et dilué avec 200 µL d'eau pour l'analyse LC/MS des amines biogènes et acides aminés.
- Aux 100 µL restants du filtrat, 500 µL MS en cours d'exécution solvant ont été ajoutés pour FIA/MS/MS.

Les deux types de mesures ont été effectuées sur un spectromètre de masse QTRAP avec une source d'ionisation de type électrospray (ESI, AB Sciex API5500QTRAP, SCIEX, Villebon-sur-Yvette, France) couplée à un chromatographe liquide à haute performance (HPLC; Agilent Technologies 1200 séries, Les Ulis, France). Dans le cas de LC/MS/MS, les métabolites ont été séparés par une colonne à phase inverse avec trait d'union (Agilent, Zorbax Eclipse XDB C18 3.0 x 100 mm, 3.5 µm) précédé d'une pré-colonne (Security Guard, Phenomenex, C18, 4 x 3 mm. Phenomenex, Torrance, CA, USA) en appliquant un gradient de solvant A (acide formique 0,2% eau) et le solvant B (acide formique 0,2% dans l'acétonitrile) plus de 7,3 minutes (0,5 minute 0% B, 5 minutes 70% B, 0,3 minute 70% B, 2 minutes 0% B) à un débit de 500 µL/min.

La température du four était de 50°C. Pour l'analyse LC/MS/MS et pour la FIA, des échantillons de 10 et 2 x 20 µL respectivement ont été soumis à des mesures dans les modes positif et négatif. L'identification et la quantification ont été réalisées par un contrôle des réactions multiples (MRM) normalisé en appliquant des étalons marqués isotopiquement dans les modes positif et négatif, respectivement. Pour l'étalonnage, un mélange de calibrateur constitué de sept concentrations différentes a été utilisé. Des contrôles de qualité dérivés d'échantillons de plasma humain lyophilisés ont été inclus pour 3 niveaux de concentration différente. Pour la FIA, une méthode isocratique a été utilisée (solvant 100% organique) avec des conditions de débits variables (0 minute, 30 µl / min ;

1,6 minutes, 30 µL / min ; 2,4 minutes, 200 µL/min ; 2,8 minutes, 200 µL/ min ; 3 minutes 30 µL/min). Les paramètres MS étaient les suivants : temps de scrutation 0,5 seconde ; Tension IS pour le mode positif 5500 V, pour le mode négatif - 4500 V ; température de la source 200°C ; avec de l'azote comme milieu de gaz de collision. Les paramètres correspondants pour LC-MS/MS étaient : temps de scrutation 0,5 secondes, température de la source 500°C, avec de l'azote comme milieu de gaz de collision.

2.2. Analyses statistiques des données

Nous avons utilisé des outils de biostatistiques pour des analyses multivariées, pour une analyse globale des données et des analyses univariées, pour l'identification de potentiels biomarqueurs. Les différences ont été considérées significatives si la probabilité (p) observée sous l'hypothèse nulle était inférieure ou égale à 0,05 ($p \leq 0,05$).

L'analyse multivariée utilisée est basée sur les méthodes de projection de type non supervisée (analyse en composantes principales ou PCA) et supervisée (moindres carrés partiels associés à l'analyse discriminante ou OPLS-DA). La PCA permet la détection du groupe d'échantillons similaires et des individus ayant des valeurs aberrantes (*outliers*). OPLS-DA a ensuite été appliquée pour maximiser les variations entre les groupes hypertendus et témoins, afin de déterminer l'existence d'une variable latente discriminant les groupes comparés ainsi que les paramètres contribuant à cette variation, le cas échéant. Les valeurs de VIP (*Variable Important for the Projection*) résument l'importance de chaque variable pour le modèle OPLS-DA tandis que les *loadings* prennent en compte le poids de chaque paramètre biologique dans la variable latente. La qualité du modèle OPLS-DA a été validée par deux paramètres, le coefficient de détermination (R^2) et par la valeur du coefficient de détermination cumulé sur toutes les variables latentes du modèle et obtenu après validation croisée ou Q^2 cumulée (Q^2_{cum}). Un seuil de 0,5 a été utilisé pour déterminer si un modèle OPLS-DA pouvait être estimé comme ayant une bonne capacité prédictive ($Q^2_{cum} \geq 0,5$) ou médiocre ($Q^2_{cum} < 0,5$). Dans le modèle réduit, les variables clés de traçage basées sur les valeurs VIP par rapport aux valeurs de chargement mises à l'échelle comme les coefficients de corrélation (P_{corr}) donnent une courbe en forme de V connu comme le «volcan», sur lequel les variables les plus importantes sont facilement reconnus. Cette analyse multivariée a été menée en utilisant le logiciel SIMCA-P v.14.1 (Umetrics, Umeå, Suède).

II. Résultats de l'étude métabolomique

Analyse métabolomique plasmatique des patients hypertendus et identification des voies métaboliques perturbées

Au départ de cette étude métabolomique, nous avons analysé le profil métabolique de 72 participants. Le diabète étant plus représenté chez les femmes que chez les hommes, nous avons supprimé tous les patients hypertendus diabétiques de cette deuxième partie. Donc, ceci à ramener la taille de l'échantillon à 64 participants composés de 33 hommes (15 hommes hypertendus et 18 témoins hommes non hypertendus) et de 31 femmes (13 femmes hypertendus et 18 témoins femmes non hypertendus) avec des âges compris entre 34 et 60 ans.

Tableau IV: Déterminants cliniques des groupes hypertendus et groupes témoins stratifiés par sexe.

Determinants (medians)	Hommes (n = 33)			Femmes (n = 31)		
	Hypertendus n = 15	témoins n = 18	P	hypertendues n = 13	témoins n = 18	P- value
Age (years)	47 (36-55)	40 (36-58)	0.103	46 (34-51)	40.5 (35-60)	0.46
PAS (mmHg)	170 (150-180)	120 (110-130)	3E-15*	170 (160-180)	120 (100-130)	2E-15*
PAD (mmHg)	110 (100-120)	80 (70-80)	2E-15*	110 (110-120)	80 (70-80)	6E-19*
IMC (kg/m ²)	26 (16-34)	22 (18-35)	0.098	29 (24-35)	21.5 (17-24)	4E-9*
Gly (mmol/L)	4 (2-5.5)	4.7 (4.0-6.0)	0.050	4.8 (3.0-11.8)	4.4 (3.6-6.0)	0.47
eDFG (mL/mn)	106 (25-155)	110 (85-156)	0.366	116 (4-188)	142 (87-205)	0.168
Hcyst (µmol/L)	20 (16-78)	18 (12-50)	0.104	16 (11-52)	13.5 (9-24)	0.049*
NT-PBNP (ng/L)	97 (35-8522)	35 (35-116)	0.196	70 (35-5850)	52.5 (35-276)	0.102
CRP _{us} (mg/L)	2.9 (0.2-12.9)	0.9 (0.2-6.2)	0.078	4.4 (0.2-23.9)	1.8 (0.2-9.1)	0.116
Chol (mmol/L)	3.9 (2.4-6.2)	4.2 (2.9-5.6)	0.710	4.3 (2.8-7.4)	4.1 (3.1-6.3)	0.440
HDL (mmol/L)	1.1 (0.5-1.6)	1 (0.55-1.47)	0.491	1.1 (0.8-2)	1.15 (0.9-1.4)	0.976
LDL (mmol/L)	2.4 (1.3-4.4)	2.65 (1.5-3.6)	0.918	2.7 (1.5-5.2)	2.4 (1.6-4.7)	0.458
TG (mmol/L)	0.8 (0.37-1.68)	0.91 (0.45-3.56)	0.203	0.81 (0.43-2,1)	0.85 (0.33-1.51)	0.524
ApoA1 (g/L)	1.2 (0.69-1.49)	1.18 (0.91-1.3)	0.898	1.26 (1.07-1.62)	1.21 (0.64-1.46)	0.059
ApoB (g/L)	0.83 (0.56-1.47)	0.78 (0.45-1.09)	0.505	0.91 (0.48-1.81)	0.75 (0.48-1.35)	0.292
Lp(a) (g/L)	0.2 (0.1-0.85)	0.2 (0.1-0.8)	0.457	0.2 (0.1-0.6)	0.2 (0.10-0.5)	0.371
VITB12	523 (220-815)	417.5 (239-833)	0.153	370 (268-741)	505 (183-770)	0.557

après correction de BH apparaissent sous forme de points bleus et ne sont pas étiquetés. Les bulles utilisées pour repérer les métabolites sont colorées selon la famille biochimique comme suit: brun léger pour les acylcarnitines; vert pour les acides aminés; bleu pour les amines biogènes; brun foncé pour les lysophosphatidylcholines; orange pour les phosphatidylcholines et jaune pour la sphingomyéline. Chez l'homme (A), l'histidine (His) était le seul métabolite diminué de manière significative chez les patients hypertendus. Chez l'homme (A), l'histidine (His) était le seul métabolite diminué de manière significative chez les patients hypertendus tandis que l'acétyl-ornithine (Ac-Orn) et 15 lipides, dont l'hydroxysphingomyéline 16: 1 (SM (OH) C16: 1), 3 diacyl phosphatidylcholines (PC aa) et 11 alkyl-acyl phosphatidylcholines (PC ae) étaient significativement augmentées chez les hommes souffrant d'hypertension. Chez les femmes (B), la spermine polyamine d'ordre élevé et la lysophosphatidylcholine 16: 0 (lysoPC a C16: 0) ont été trouvées diminuées chez les patients hypertendus tandis que 50 métabolites, dont 11 acides aminés (arginine (Arg), leucine (Leu), Isoleucine (Ile), tryptophane (Trp), phénylalanine (Phe), tyrosine (Tyr), lysine (Lys), glutamine (Gln), histidine (His), méthionine (Met) et citrulline (Cit)), 5 acides aminés-métabolites dérivés (kynurénine, acétyl-ornithine, acide α -aminoadipique (alpha-AAA), diméthylarginine symétrique (SDMA) et taurine), deux acyl-L-carnitines monoinsaturées à chaîne moyenne (décénoyl-L-carnitine ou C10: 1 et dodécénoyl -L-carnitine ou C12: 1), une hydroxy-sphingomyéline (SM (OH) C14: 1), une lysophosphatidylcholine (lysoPC a C28: 1) et 30 phosphatidylcholines dont 20 diacyl phosphatidylcholines (PC aa) et 10 alkyl-acyl phosphatidylcholines (PC ae).

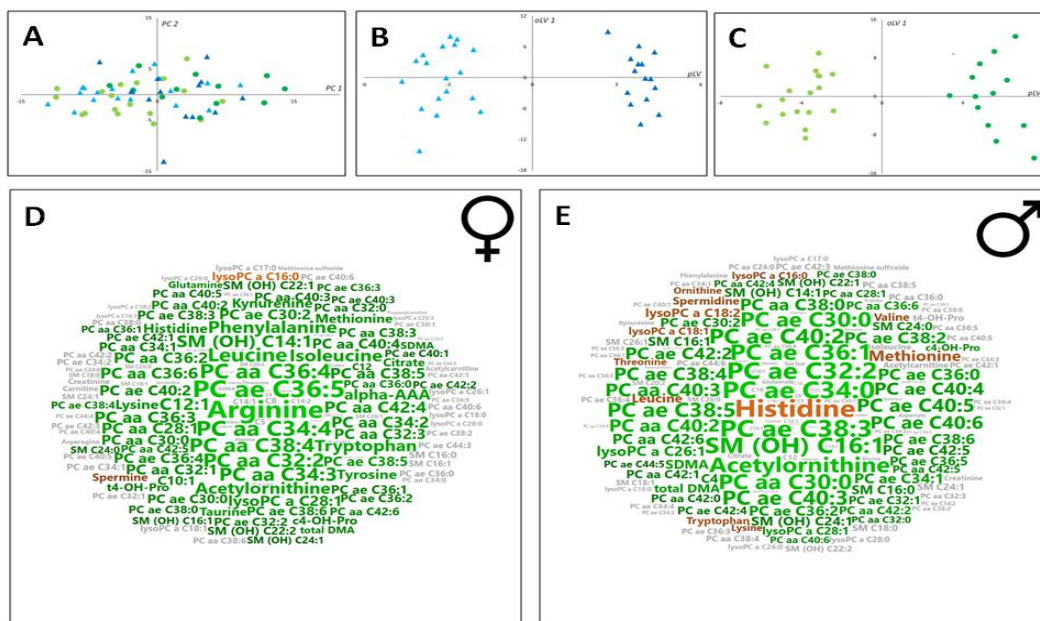


Figure 21 : Analyses multivariées des données métabolomiques.

A: Premier plan principal de PCA réalisé sur l'ensemble de données. **B:** Analyse multivariée supervisée. OPLS-DA supervisé comparant l'hypertension aux témoins chez les femmes. pLV: variable latente prédictive; oLV 1: première variable latente orthogonale. Les modèles OPLS-DA chez les hommes offrent une bonne capacité prédictive ($Q^2_{cum} = 0.6$). **C:** Analyse multivariée supervisée. OPLS-DA supervisé comparant l'hypertension aux témoins chez les femmes. pLV: variable latente prédictive; oLV 1: première variable latente orthogonale. Les modèles OPLS-DA chez les femmes offrent une bonne capacité prédictive ($Q^2_{cum} = 0.59$). **D and E:** Visualisation en nuage de mots de la signature métabolomique plasmatique de l'hypertension chez les femmes et les hommes. Les nuages de mots ont été calculés en utilisant les VIP des métabolites pour déterminer la taille des étiquettes et les loadings (Poids) pour déterminer l'échelle de couleurs. Les métabolites avec des valeurs de charges négatives (diminués dans l'hypertension) sont présentés en couleur brune, tandis que les métabolites avec des valeurs de charges positives (augmentés dans l'hypertension) en vert. Les métabolites avec une VIP < 1 sont affichés en couleur grise. Dans la détermination de nuages de mots, nous avons identifié chez les hommes hypertendus une augmentation de 12 métabolites (histidine, méthionine, le tryptophane, la lysine, la thréonine, la valine, la leucine, l'ornithine, la spermidine, les lysophosphatidylcholines (lysoPC à C18:1, lysoPC à C18:2, lysoPC à C16:0) en concentration diminuée de couleur rouge. Chez les femmes hypertendues, 73 métabolites en vert étaient augmentés et deux métabolites (La spermine et lysoPC à C16:0) de couleur rouge étaient diminués.

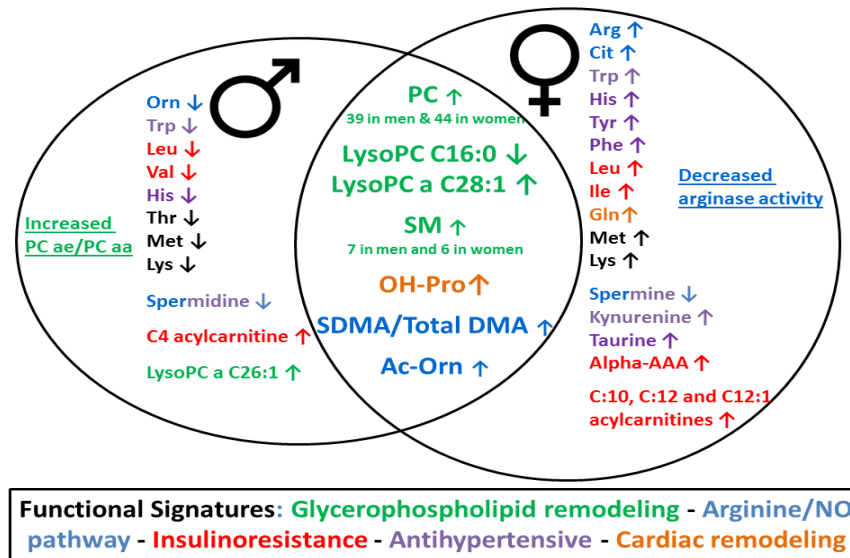


Figure 22 : Modèle intégrative des signatures communes et spécifiques au sexe et leur principale signification fonctionnelle.

III. Discussion

Nous avons exploré pour la première fois le métabolome plasmatique des sujets hypertendus au sein de la population bamakoise en utilisant une analyse par injection en flux continu couplée à un spectromètre de masse en tandem (FIA-MS/MS) et une chromatographie liquide couplée à une spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS/MS). L'approche analytique ciblée utilisant le kit Biocrates Absolute IDQ p180 a été utilisée pour conduire à un meilleur caractère explicatif et prédictif de l'approche métabolomique [10; 12]. Nous avons fait le choix d'utiliser pour cette étude des prélèvements sanguin du fait de leur avantage de pouvoir être obtenus à bon escient pour une analyse métabolique. De plus, la majorité des métabolites humains qui sont issus du métabolisme physiopathologique de l'HTA sont concentrés dans les fluides biologiques plasmatiques.

L'âge moyen des personnes atteintes d'HTA ne différencie pas significativement de celui des témoins, pas plus que le sex-ratio. La médiane de la pression artérielle systolique (mmHg), la pression artérielle diastolique et l'indice de masse corporelle (IMC) était plus élevée chez les hypertendus que chez les témoins.

Les diagrammes de dispersion PCA non supervisés des données métabolomiques n'ont montré aucun regroupement en fonction du groupe d'HTA ou du groupe témoin, ni aucune différence notable dans le premier plan principal (PC1, 2). Les modèles OPLS-DA obtenus, comprenait un ensemble de 45 métabolites avec de bonnes capacités prédictives ($Q2_{cum} = 0,59$ pour les femmes ; $Q2_{cum} = 0,60$ pour les hommes).

Parmi les métabolites du modèle final, les meilleurs métabolites discriminants (avec $VIP \geq 1$ et valeurs absolues de P_{corr} élevées) comprenaient un sous-ensemble de 65 (43%) métabolites comprenant 13 acides aminés et des amines biogènes : (Total DMA, SDMA, histidine, méthionine, leucine, tryptophane, thréonine, spermidine, valine, ornithine, acétyl-ornithine, lysine et c4-OH-Pro), une acylcarnitine (C4), trente-neuf phosphatidylcholines, cinq lysophosphatidylcholines et sept sphingomyélines.

Chez les hommes hypertendus, l'identification de 12 métabolites en concentration diminuée tels que l'histidine, méthionine, leucine, tryptophan, méthionine, valine, ornithine, lysine, spermidine et trois lysophosphatidylcholines et de 53 autres métabolites augmentés pourraient ouvrir des perspectives dans l'identification de nouvelles voies physiopathologiques spécifiques. D'autre part, les métabolites que nous avons identifiés et qui ont déjà été rapportés dans la littérature [13 ;14], pourraient représenter des marqueurs robustes de l'HTA. Chez les femmes, nous avons identifié parmi les métabolites du modèle final, les meilleurs métabolites discriminants (avec $VIP \geq 1$ et valeurs absolues de P_{corr} élevées) comprenaient un sous-ensemble de 75 (49%) métabolites comprenant 20 acides aminés et des amines biogènes (arginine, diméthyl-arginine totale, diméthyl-arginine symétrique, acétyl), l'ornithine, les stéréoisomères trans et cis-hydroxyproline (t4-OH-Pro et c4-OH-Pro), la glutamine, la méthionine, la citrulline, la lysine, l'histidine, la tyrosine, la leucine, l'isoleucine, la phénylalanine, le tryptophane, la kynurénine, spermine, taurine et aminoadipate), trois acylcarnitines (C12: 0, C10: 1 et C12: 1), 44 phosphatidylcholines, deux lysophosphatidylcholines et six sphingomyélines. De tous ces métabolites identifiés chez les femmes hypertendus, trois seulement étaient en concentration diminuée (la spermine, LysoPC à C16: 0) par rapport aux groupes témoin. En revanche, les 73 autres métabolites étaient élevés dans le groupe hypertendu.

Une forte représentation de l'acyl-alkyls des phosphatidylcholines dans le groupe des hommes hypertendus pourraient s'expliquer par le stress oxydatif impliqué dans la pathogenèse de l'HTA [15], par contre une protection plus robuste chez la femme à travers les hormones œstrogènes a été rapportée dans une étude [16]. Cette étude a montré des signatures fonctionnelles dans le sang des deux groupes de patients hypertendus, des concentrations diminuées de lysophosphatidylcholine (lysoPC C16:0) et élevées de phosphatidylcholines, lysophosphatidylcholine (lysoPC C28:1), de sphingomyélines, de l'hydroxyproline, de la SDMA, de la DMA totale et le rapport Arg/Orn. Dans l'optique d'un travail sous la forme de biomarqueurs des concentrations du ratio PCae/PCaa et de Arg/Orn, une courbe ROC a permis d'identifier leurs caractéristiques respectives.

Un LysoPC est un glycérophospholipide dans lequel l'un des résidus d'acide gras du glycérol a été hydrolysé par une phospholipase. Dans la littérature [17], il a été noté que les LysoPC se trouvaient en abondance dans les dépôts lipidiques, probablement en raison de la capture de LDL (lipoprotéines de basse densité) oxydées, ce qui pourrait endommager l'intima des vaisseaux par oxydation. Cette étude n'a pas montré de différences significatives en ce qui concerne les marqueurs lipidiques. Cependant, des niveaux élevés de LysoPC se sont avérés corrélés à l'insulinorésistance et à l'obésité. Une étude menée par [18] suggère que l'inhibition de la phospholipase A2 limite la production de LysoPC, pourrait améliorer les maladies cardiovasculaires. Cependant, la modulation des réponses à l'obésité et à l'insulinorésistance semble être responsable de l'influence du lysoPC dans l'HTA.

Dans les deux groupes homme et femme hypertendus, Les concentrations du ratio Arg/Orn sont élevées, mais nous avons constaté que les métabolites impliqués dans la voie de biosynthèse de l'arginine présente un caractère dimorphique.

Cette augmentation du ratio Arg/Orn dans les deux groupes hypertendus s'explique par une augmentation de SDMA, le biomarqueur le plus contributif au diagnostic de l'HTA. L'effet le plus connu de SDMA est l'inhibition de la production de NO. Dans les globules rouges et les plaquettes, une diminution de la L-arginine associée à une réduction de la biodisponibilité de la L-arginine avec une diminution de l'activité de la NO synthase a été rapportée, limitant ainsi la synthèse de NO dans les cellules sanguines chez des patients hypertendus humains et animaux [19]. En plus de cette inhibition de la production de NO, le SDMA pourrait avoir des effets pro-inflammatoires et induire des ERO via un afflux de calcium dans les monocytes par une augmentation de la NADPH-oxydase endothélial [20].

Cette étude a fait ressortir, l'arginine et son produit de dégradation, la citrulline uniquement chez les femmes hypertendues ; l'ornithine, un produit d'arginine n'a diminué que chez les hommes hypertendus et son précurseur, l'acétyl-ornithine, a augmenté dans les deux groupes hypertendus. La spermidine était diminuée que chez les hommes hypertendus par contre, la spermine un produit direct de la spermidine était aussi diminuée chez les femmes hypertendues. L'effet pro-inflammatoire et de stress oxydatif de SDMA dans les deux groupes hypertendus étant connus, nous pouvons noter que, d'une part, tous ces métabolites en raison d'une augmentation des acyl-alkyls phosphatidylcholines chez les hommes hypertendus, et d'autre part, le ratio Arg/Orn, témoin de l'activité de l'arginase, une enzyme catalysant la transformation de l'arginine en ornithine et urée [21], et a été observé diminuer dans le groupe chez les femmes hypertendus, démontrant le caractère de dimorphisme sexuel dans l'HTA du sujet noir africain.

Le tryptophane (Tryp) et la kynurénine (Kyn) ont été mis en évidence et augmentés dans les signatures métaboliques chez les femmes hypertendues dans le modèle VIP et quasi-absent chez les hommes hypertendus. Le Tryp est un acide aminé essentiel qui, dans des conditions normales, n'est fourni que par le régime alimentaire. L'effet bénéfique sur la relaxation des vaisseaux artériels et sur le contrôle de la PA a été rapporté [22] dans le métabolisme du Tryp en Kyn par l'action de l'indoleamine 2,3-dioxygénase dans les cellules endothéliales. La voie de la Kyn est la voie de dégradation du Trp et assure certaines fonctions biologiques. Une étude réalisée par [23] a révélé qu'une diminution de la concentration de Tryp et une augmentation du rapport Kyn/Tryp indiquaient une réponse immunitaire active chez les patients coronariens.

L'inflammation pourrait être un pont dans la dégradation du Tryp avec une augmentation de la Kyn et le rapport de Kyn/Tryp. Cependant, dans notre étude, l'absence de ratio kyn/Trp pourrait être un indicateur d'une augmentation des niveaux de Tryp chez les femmes hypertendues.

IV. Conclusion :

Outre les métabolites discutés en association avec la régulation et l'élévation de la pression artérielle, nous avons identifié des signatures métabolomiques uniques dans les deux groupes hypertendus consistant en des niveaux plus abondants d'acides aminés non essentiels, qui sont associés à la pression artérielle élevée. Une modification de la voie de l'Hcy, de L-arginine/NO, de l'Arg/Orn, de SDMA, PCae/PCaa, des acides aminés et amines biogènes, des acylcarnitines ont été proposées en tant que facteur de risque de l'HTA. Dans cette étude, nous avons mis en évidence une vue intégrative en fonction du sexe de la signature métabolomique de l'hypertension globale et de ses conséquences fonctionnelles. Sur le plan fonctionnel, cinq mécanismes physiopathologiques principaux sont mis en évidence par la signature. Les glycérophospholipides et le remodelage cardiaque affectant également les femmes et les hommes, la résistance à l'insuline et l'augmentation du nombre de médiateurs antihypertenseurs affectant presque exclusivement les femmes, alors que la voie de l'arginine/NO altérée montre à la fois des similitudes et des spécificités selon le sexe.

V. References:

1. Aram et al., The seventh Report of the Joint national committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure. JAMA, 2003. 19: p. 2560-71.
2. Carretero et al., Essential Hypertension. Part I: Definition and Etiology. Circulation, 2000: p. 329-335.
3. Borel J-P et al., pression artérielle, artériosclérose, pp. 93- 112. In Biochimie pour le clinicien, Mécanisme moléculaires et chimiques à l'origine des maladies. Maladie des vaisseaux. Maclean
4. Amah et al., Particularités de l'hypertension artérielle du sujet noir-africain. Sang Thrombose Vaisseaux (STV), 2007. 19: p. 519-25.
5. OMS., Le manuel STEPS, Organisation mondiale de la santé., Genève, 2003.
6. Cooper et al., The prevalence of hypertension in seven populations of west African origin. . Am J Public Health., 1997. 87(2): p. 160-8.
7. Mercurio et al., Metabolomics: a new era in cardiology? J Cardiovasc Med (Hagerstown), 2011. 12(11): p. 800-5.
8. Dietrich et al., Identification of serum metabolites associated with incident hypertension in the european prospective investigation into cancer and nutrition–potsdam stud. Hypertension. 2016. 68(2): p. 471-7.
9. Baudin et al., Protéomique et métabolomique, pp. 83-98. In Beaudoux J-L, Genève Durand (2013). Biochimie médicale, marqueurs actuels et perspectives, 2e ed. Médecines Sciences Publication, Lavoisier, Paris., 2013: p. 607.
10. Chao De La Barca et al., Metabolome and mass spectrometry: new biomedical analysis perspectives. . Ann Biol Clin (Paris), 2015. 73(1): p. 126-30
11. Eriksson et al., Multi- and megavariate data analysis – Part I: Basic principles and applications. In MKS Umetrics AB, editor. Umea., 2006.
12. Royer et al., L'approche métabolomique par spectrométrie de masse : évidences, incertitudes et points critique, . SPECTRA ANALYSE, 2017. n°314.
13. Tain et al., Toxic Dimethylarginines: Asymmetric Dimethylarginine (ADMA) and Symmetric Dimethylarginine (SDMA). Toxins (Basel), 2017. 9(3).
14. Tzoulaki et al., Worldwide exposures to cardiovascular risk factors and associated health effects: current knowledge and data gaps. Circulation, 2016. 133: p. 2314–33.
15. du Plooy et al., The association of endothelin-1 with markers of oxidative stress in a biethnic South African cohort: the SABPA study. Hypertens Res, 2017. 40(2): p. 189-195.
16. Gaskins et al., Endogenous reproductive hormones and C-reactive protein across the menstrual cycle: the BioCycle Study Am J Epidemiol, 2012. 175(5): p. 423-31.
17. Siess, Athero- and thrombogenic actions of lysophosphatidic acid and sphingosine-1-phosphate. Biochim Biophys Acta, 2002. 1582(1-3): p. 204-15.
18. Choi et al., Lysophosphatidylcholine is Generated by Spontaneous Deacylation of Oxidized Phospholipids. Chem Res Toxicol 2011. 24: p. 111–118.
19. Moss et al., Diminished L-arginine bioavailability in hypertension. Clin Sci (Lond), 2004. 107(4): p. 391-7.
20. Schepers et al., Role of symmetric dimethylarginine in vascular damage by increasing ROS via store-operated calcium influx in monocytes. Nephrol Dial Transplant, 2009. 24(5): p. 1429-35
21. Jay et al., Case Report of Argininemia: The Utility of the Arginine/Ornithine Ratio for Newborn Screening (NBS). JIMD Rep, 2013. 9: p. 121-124.
22. Wang et al., Tryptophan-kynurenine pathway is dysregulated in inflammation, and immune activation. Front Biosci (Landmark Ed), 2015. 20: p. 1116-43.
23. Wirleitner et al., Immune activation and degradation of tryptophan in coronary heart disease. European Journal of Clinical Investigation, 2003. 33: p. 550–554.

Etude phytochimique et activité antiradicalaire des feuilles de *Lannea velutina* A. Rich, plante utilisée dans le traitement traditionnel de l'hypertension artérielle au Burkina Faso

Boukaré KABORE^{1,2}, Moumouni KOALA^{1,2}, Lazare BELEMNABA², Adama HEMA¹, Sylvain OUEDRAOGO², Eloi PALE¹

¹Laboratoire de Chimie organique et de Physique Appliquées (L.C.O.P.A), Université Joseph KI-ZERBO, 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso

²Institut de Recherche en Sciences de la Santé (IRSS), 03 BP 7047 Ouagadougou 03, Burkina Faso

Auteur correspondant : bkrkabore@gmail.com

Résumé

Lannea velutina est une plante médicinale utilisée traditionnellement pour la prise en charge de divers pathologies notamment l'**hypertension artérielle** (HTA) [1], [2]. Le criblage, effectué par HPTLC [3], a montré la présence de terpénoïdes, de flavonoïdes et de tanins dans les extraits. Les teneurs en CPT, déterminées par la méthode au réactif de Folin-Ciocalteu [4], variaient de $135,5 \pm 3,6$ à $533,9 \pm 5,1$ mg EAG/g. Celles flavonoïdes totaux (FT), déterminées par la méthode au trichlorure d'aluminium [5], variaient de $13,5 \pm 0,1$ à $59,4 \pm 0,6$ mg EQ/g. Les concentrations inhibitrices 50 % (CI₅₀), déterminées par la méthode au 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH), variaient de $15,5 \pm 0,3$ à $108,3 \pm 0,9$ µg/mL. Ainsi, l'extrait méthanolique renferme la plus grande teneur en CPT (533 mg/g), en FT (59 mg/g) et est aussi le plus actif (CI₅₀ = 15 µg/mL). Les feuilles de *L. velutina* pourraient constituer une source alternative pour la prise en charge de l'HTA.

Mots clés : *Lannea velutina*, Etude phytochimique, HPTLC, Composés phénoliques

Phytochemical study and antiradical activity of the leaves of *L. velutina* A. Rich, a plant used in the traditional treatment of hypertension in Burkina Faso

Abstract

Lannea velutina is a medicinal plant traditionally used for the treatment of various pathologies, notably high blood pressure (HBP) [1], [2]. The screening, performed by HPTLC [3], showed the presence of terpenoids, flavonoids and tannins in the extracts. CPT contents, determined by the Folin-Ciocalteu reagent method [4], ranged from 135.5 ± 3.6 to 533.9 ± 5.1 mg EAG/g. Total flavonoids (TF), determined by the aluminium trichloride method, ranged from 13.5 ± 0.1 to 59.4 ± 0.6 mg TE/g. The 50% inhibitory concentrations (IC₅₀), determined by 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) method [5], ranged from 15.5 ± 0.3 to 108.3 ± 0.9 µg/mL. Thus, the methanolic extract contains the highest content of CPT (533 mg/g), and FT (59 mg/g) and is also the most active (IC₅₀ = 15 µg/mL). *L. velutina* leaves could be an alternative source for the management of hypertension.

Keywords: *Lannea velutina*, Phytochemical study, HPTLC, Phenolic compounds

Introduction

La médecine par les plantes est utilisée traditionnellement dans de nombreux pays depuis des millénaires. Avec le vieillissement de la population mondiale ces dernières années, le nombre de personnes atteintes de maladies chroniques telles que le diabète, l'hypertension, le cancer et les maladies métaboliques a augmenté [6]. En outre, les procédures de traitement des maladies ont mis davantage l'accent sur la qualité de vie des patients que sur le seul soulagement des symptômes [7]. Aujourd'hui, les maladies cardiovasculaires (MCV) sont à l'origine de plus de 17 millions de décès par an dans le monde, soit près d'un tiers de l'ensemble des décès [8]. 9,4 millions de décès par an sont liés à des troubles liés à l'hypertension [9]. Cette maladie touche environ 17,6% de la population au Burkina Faso [10]. L'hypertension artérielle est un risque cardiovasculaire qui se caractérise par une augmentation des incidents cérébrovasculaires, coronariens, cardiaques et rénaux [11]. Une étude de l'OMS (2021) a montré que 27% de la population est hypertendue, avec une prévalence importante dans les régions métropolitaines [12]. La mortalité hospitalière attendue en raison de cette pathologie est de 20,80% [13]. Ce taux reste supérieur à la moyenne des hôpitaux en Afrique. Bien que ses causes spécifiques soient encore inconnues, certains auteurs la relient au stress oxydatif [14]. Par conséquent, l'utilisation de composés anti-stress connus sous le nom d'antioxydants serait une méthode efficace pour contrôler l'hypertension. Dans les fluides physiologiques, les antioxydants synthétiques actuellement employés en médecine moderne ne sont pas très solubles [15]. Ils ont de nombreuses conséquences négatives et peuvent être dangereux [16]. Les traitements de l'hypertension par la médecine moderne sont coûteux et souvent inaccessibles à la population africaine, d'où l'intérêt de la médecine traditionnelle.

En conséquence, le marché mondial de la phytothérapie, y compris les produits pharmaceutiques et les compléments alimentaires à base de plantes, est en hausse [17]. Cependant, malgré l'idée que les médicaments à base de plantes seront efficaces et sûrs en raison de leur utilisation à long terme, les autorités sanitaires nationales et le grand public ont exprimé des inquiétudes quant à leur sécurité en raison d'un manque de preuves scientifiques. Plusieurs recherches médicales anciennes indiquent que *L. velutina* a été utilisé pour traiter la fièvre, les abcès et les plaies enflées, ainsi que la pression sanguine excessive [1], [5]. Des recherches antérieures ont démontré que les feuilles, le tronc et l'écorce de la racine de *L. velutina* possèdent des propriétés antibactériennes, larvicides, antiradicalaires et inhibitrices de la 15-lipoxygénase [5], [18]. Bien que les feuilles de *L. velutina* aient une longue histoire d'utilisation populaire et des avantages thérapeutiques prouvés [5], [19], leur phytochimie et leur propriété antioxydante ne sont pas complètement comprises. Par conséquent, le criblage phytochimique et les tests antioxydants des extraits de feuilles de *L. velutina* sont nécessaires pour le développement de nouveaux produits pharmaceutiques et pour assurer la sécurité des médicaments à base de plantes dérivés de cette partie de la plante.

L'objectif de la présente étude est de mettre à jour les données scientifiques sur le profil phytochimique des feuilles et leurs activités antioxydantes hydrophiles afin de fournir une base scientifique à leur utilisation en médecine traditionnelle.

Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal était constitué de feuilles de *L. velutina*. Les feuilles de cette plante ont été collectées en juillet 2021 à Komkaga, dans la région centrale, située à 30 km de Ouagadougou. Un échantillon de la plante a été identifié par un botaniste du "Centre National de Semences Forestières du Burkina Faso (CNSF)" et déposé sous la référence N° CNSF-1426. Le matériel végétal a été séché à température ambiante sous ventilation. L'échantillon sec obtenu a été réduit en une poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique. Le matériel végétal a été nettoyé, séché puis pulvérisé au moyen d'un broyeur ThomasTM Scientific (USA).

Extraction

Vingt-cinq grammes de poudre de feuilles ont été extraits par macération à basse température (4°C) pendant 24 heures avec 200 mL de n-hexane. L'expérience a été répétée de nombreuses fois jusqu'à ce que l'échantillon soit incolore. Après filtration avec un papier filtre, les extraits d'hexane (EHF) ont été recueillis et concentrés à $t < 40^{\circ}\text{C}$ à l'aide d'un évaporateur rotatif (Buchi). Le résidu sec de la poudre de feuilles a été extrait séquentiellement avec du dichlorométhane, de l'acétate d'éthyle et du méthanol dans les mêmes conditions que précédemment. Les extraits de feuilles de *L. velutina* à base de dichlorométhane (EDF), d'acétate d'éthyle (EAF) et de méthanol (EMF) ont été séchés puis stockés au frais pour une utilisation ultérieure. Pour obtenir l'extrait aqueux, cent grammes de poudre de feuilles ont été extraits par macération à basse température (4°C) pendant 24 heures avec 1000 mL d'eau. L'expérience a été répétée de nombreuses fois jusqu'à ce que l'échantillon soit incolore. Les différents filtrats ont été recueillis, congelés et séchés à l'aide d'un lyophilisateur. Les extraits séchés ont été redissout dans un volume minimum de méthanol pour le criblage des composés, la détermination des teneurs en composés phénoliques et l'évaluation de l'activité antioxydante hydrophile et lipophile par analyse spectrophotométrique

Criblage phytochimique par HPTLC

Chromatographie

Le criblage phytochimique des extraits de feuilles de *L. velutina* a été réalisé par la méthode de chromatographie en couche mince à haute performance (HPTLC) [3] avec de légères modifications. Cette analyse a été réalisée sur des plaques HPTLC de 20 cm × 10 cm en gel de silice 60 F₂₅₄ (Merck, Darmstadt, Allemagne). Les solutions d'échantillons ont été appliquées sur les plaques HPTLC à l'aide d'un applicateur Linomat 5 (CAMAG, Muttenz, Suisse). Typiquement, des volumes de 5 µL d'échantillons ont été appliqués sous forme de bandes de 8 mm avec un dépositaire d'échantillon semi-automatique (CAMAG, Muttenz, Suisse) Linomat 5 équipé d'une seringue de microlitres. La distance entre les spots est de 3,4 mm. La distance entre le premier spot et le bord gauche de la plaque ainsi qu'entre le dernier spot et le bord droit de la plaque est de 20 mm. Un taux d'application constant de 100 nL/s a été utilisé. Le développement linéaire ascendant avec une phase mobile de 10 mL a été effectué dans une chambre en verre CAMAG à double auge doublée de papier filtre et préalablement saturée de vapeur de phase mobile pendant 30 minutes. La distance de développement était de 70 mm environ. Les plaques ont été séchées après le développement à l'aide d'un sèche-cheveux. Dans la chambre à double auge, la phase mobile était :

Flavonoïdes : acétate d'éthyle-acide formique-acide acétique-eau 100 : 11 : 11 : 26, v/v/v/v ;

Tanins : acétate d'éthyle-méthanol-eau-chloroforme 18 : 2,4 : 2,1 : 6, v/v/v/v ;

Stérols et triterpènes : acétate de n-hexane-éthyle 20 : 4, v/v ;

Saponines : acétate d'éthyle-éther de pétrole 2 : 1, v/v.

Révélation et documentation

Par pulvérisation en utilisant le dispositif de pulvérisation et les réactifs suivants :

Flavonoïdes : Les plaques développées ont été pulvérisées avec le réactif de Neu (1% d'ester aminoéthylrique d'acide diphenylbirinique dans du méthanol et 5% de polyéthylène glycol 400 dans de l'éthanol). La plaque a été chauffée à 110°C pendant 5 min et séchée sous la hotte. Les flavonoïdes ont été détectés sous UV 366/>400 nm.

Tanins : la plaque a été chauffée à 100°C pendant 2 min, puis pulvérisée avec du réactif de trichlorure de fer III à 2 % dans de l'éthanol. La plaque a ensuite été séchée sous une hotte pendant 5 min après la dérivatisation. Les tanins ont été révélés en lumière blanche [20].

Stérols et triterpènes : Le réactif de Liebermann Burchard a été préparé en mélangeant de l'anhydride acétique (5 mL) avec de l'acide sulfurique concentré (5 mL), de l'éthanol à 95% refroidi (50 mL) dans cet ordre [3]. Les plaques développées ont été séchées à l'aide de cheveux froids pendant 3 min, puis pulvérisées avec le réactif. Enfin, les plaques développées ont été chauffées sur le réchauffeur de plaques à 110°C pendant 3 à 5 min. L'évaluation a été réalisée après cela sous une lumière UV à 366 nm [20].

Saponines : Le réactif d'anisaldéhyde acide sulfurique a été préparé en mélangeant 0,5 mL d'anisaldéhyde acétique avec 10 mL d'acide acétique glacial, en ajoutant 85 mL de méthanol et 5 mL d'acide sulfurique. Pulvériser le réactif et chauffer la plaque pendant 5 à 10 minutes à 100 °C. Le réactif a une durée de stabilité très limitée. Les saponines ont été révélées sous lumière blanche.

Teneurs en composés phénoliques totaux, flavonoïdes totaux et tanins condensés

La teneur en composés phénoliques totaux (CPT) des extraits de feuilles a été déterminé par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu [21] avec de légères modifications. En bref, 0,1 ml d'extrait végétal et la solution d'acide gallique ont été mélangés avec 0,1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu préalablement dilué dix fois avec de l'eau distillée. Après vortexage, le mélange a été incubé pendant 8 min à température ambiante, puis 1,0 mL de solution de carbonate de sodium saturé à 7,5 % a été ajouté. Les combinaisons ont été fixées à 37°C pendant 30 min dans l'obscurité. Les absorbances de la couleur bleue résultante ont été lues à 760 nm avec un spectrophotomètre SHIMADZU UV-Vis. Les teneurs en composés phénoliques des extraits ont été déterminés en utilisant l'équation de la courbe d'étalonnage ($y = 19,532x + 0,0236$, $R^2 = 0,9993$ (1)). Les résultats sont exprimés en mg d'équivalents d'acide gallique (GAE) par gramme de poids sec. Toutes les déterminations ont été effectuées en triplicata ($n = 3$). La détermination de la teneur totale en flavonoïdes (FT) dans les extraits de feuilles a été effectuée comme indiqué précédemment en utilisant la méthode colorimétrique $AlCl_3$ [20]. La quercétine a été utilisée comme standard, et la quantification a été exprimée en rapportant l'absorbance dans la courbe d'étalonnage de la quercétine ($y = 20,022x + 0,0087$, $R^2 = 0,9992$ (2)). Les teneurs totales en flavonoïdes ont été exprimées en mg d'équivalents de quercétine/g de poids sec. Toutes les déterminations ont été effectuées en triplicata ($n = 3$). La détermination des tanins condensés dans les extraits est effectuée selon la méthode décrite par Broadhurst et Jones avec de légères modifications [22]. A 0,5 ml de chaque échantillon ou standard convenablement dilué, on ajoute 3 ml de solution de vanilline (4%, p/v, dans du méthanol) et 1,5 ml de HCl concentré. Après vortexage, le mélange est incubé pendant 20 min à 20 °C. Les absorbances de la couleur rouge résultante ont été lues à 500 nm avec un spectrophotomètre SHIMADZU UV-Vis. Les teneurs en tanins condensés sont déduites de la courbe d'étalonnage de la catéchine (0-1 mg/mL) ($y = 2,7512x + 0,0095$, $R^2 = 0,9996$ (3)). Les résultats sont exprimés en mg d'équivalent catéchine par gramme de poids sec (mg CE/g). Toutes les déterminations ont été effectuées en triplicata ($n = 3$).

Activités antioxydantes hydrophiles et lipophiles déterminées par le test du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

En utilisant la méthode de piégeage des radicaux avec le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH-) [3], [21], [23], l'activité antioxydante des échantillons et des standards a été évaluée. Le processus est basé sur la capacité des extraits de plantes à piéger le radical DPPH (DPPH-) par rapport au Trolox dans une courbe dose-réponse. Le radical DPPH absorbe dans le visible à $\lambda_{max} = 517$ nm et disparaît avec la réduction par un composé antioxydant [3], [23]. En bref, des aliquotes de 1 mL de solutions méthanoliques des échantillons ou des standards à différentes concentrations ont été ajoutés chacun à 4 mL d'une solution méthanolique de DPPH. Une solution de DPPH- 0,10 mM, obtenue en dissolvant 4 mg de DPPH- dans 100 ml de méthanol, a été utilisée. L'échantillon témoin était composé de 1 ml de méthanol ajouté à 4 ml de DPPH-. Les tests ont été réalisés en triplicata. Après une période d'incubation de 15 min à température ambiante dans l'obscurité, l'absorbance a été mesurée par spectrophotométrie (SHIMADZU) à 517 nm. L'activité de piégeage des radicaux a été calculée comme suit : $I \% = [(Abs_0 - Abs_1) / Abs_0] * 100$ (4), où Abs_0 était l'absorbance du blanc et Abs_1 était l'absorbance en présence du composé testé à différentes concentrations. La CI_{50} (concentration provoquant une inhibition de 50 %) a été estimée graphiquement à l'aide d'une courbe d'étalonnage linéaire en traçant les concentrations de l'extrait en fonction de

l'action piégeuse correspondante. L'activité antioxydante a été désignée par l'indice d'activité antioxydante (IAA), qui a été calculé comme suit :

$$IAA = \frac{\text{concentration finale de DPPH } (\mu\text{g/mL})}{CI_{50} (\mu\text{g/mL})} \quad (5)$$

Ainsi, l'IAA a été calculé en considérant la masse de DPPH- et la masse du composé testé dans la réaction, ce qui donne une constante pour chaque composé, indépendante de la concentration de DPPH- et de l'échantillon utilisé. Dans ce travail, les extraits de plantes sont considérés comme présentant une activité antioxydante faible lorsque l'IAA < 0,5, une activité antioxydante modérée lorsque l'IAA est compris entre 0,5 et 1,0, une activité antioxydante forte lorsque l'IAA est compris entre 1,0 et 2,0, et très forte lorsque l'IAA > 2,0 [23]. Les essais ont été réalisés en triplicata et tous les échantillons et les solutions standard, ainsi que les solutions de DPPH-, ont été préparés quotidiennement.

Analyse statistique

Les données ont été traitées et analysées avec le logiciel Graph Pad Prism version 6.0. Les données ont été exprimées en tant que moyenne ± erreur standard de la moyenne (SEM). Les valeurs d'utilisation moyennes ont été comparées à l'aide de l'ANOVA (analyse de la variance) à sens unique, suivie du test de Bonferroni. Les différences sont considérées comme statistiquement significatives pour une "valeur p inférieure à 0,05".

Résultats and Discussion

Criblage phytochimique par HPTLC

Sur des plaques de HPTLC (en verre) et de gel de silice 60, F₂₅₄ (Merck), divers extraits de feuilles de *L. velutina* ont été criblés pour leurs groupes phytochimiques. Les résultats sont présentés dans la figure 1. Les différentes couleurs des taches (orange, jaune, bleu, vert, rose et violet) qui apparaissent sur un chromatogramme sous UV/366 nm et lumière blanche peuvent correspondre à diverses classes de métabolites secondaires. Pour déterminer ce que les tests UV/366 nm révèlent sur les produits chimiques, on a utilisé le réactif de Neu pour les flavonoïdes, le réactif du trichlorure de fer pour les tanins, le réactif de Liebermann Burchard pour les terpénoïdes et le réactif de l'acide sulfurique Anisaldehyde pour les saponines.

Détection des stérols, des triterpènes et des saponins

Les stérols sont généralement fluorescents aux UV/366 nm en bleu, jaune et vert, tandis que les terpènes le sont en bleu, jaune, vert et violet [3]. Après avoir été traitées chimiquement avec le réactif de Liebermann-Bürchard, les plaques HPTLC ont été chauffées à 110 degrés Celsius. Les triterpènes et les stéroïdes sont révélés en lumière ultraviolette par le réactif de Liebermann-Bürchard sous forme de couleurs bleues, vertes, roses, brunes et jaunes (Figure 1A). En lumière visible, le réactif de l'acide anisaldehyde-sulfurique a révélé les stérols et les triterpènes sous forme de couleurs bleues et rouge-violet (figure 1B). En lumière visible, le même réactif présente des couleurs jaune et verte pour les saponines [24]. Aux UV/366 nm, le réactif de Liebermann-Bürchard révèle les stérols sous forme de couleurs jaune et jaune-vert. Ce réactif permet de classer les triterpènes en types oléane et ursane si les taches ont une fluorescence rouge et en type lupin si les taches ont une fluorescence jaune-orange [25]. Ces informations issues de la bibliographie nous ont permis d'attribuer les chromatogrammes que nous avons acquis (Figures 1A et 1B). Le réactif de Liebermann-Bürchard a révélé que chaque extrait contient des triterpènes oléaniques et ursaniques (taches R_f = 0,05, 0,29 et 0,39), des triterpènes lupins (taches R_f = 0,19 et 0,27) ainsi que des stérols (taches R_f = 0,02, 0,38, 0,48, 0,58, 0,79 et 0,95). Le réactif anisaldehyde-acide sulfurique (Figure 1B) a révélé que seuls les extraits d'hexane, de dichlorométhane et d'acétate d'éthyle contiennent des triterpènes et des stérols (taches R_f = 0,81 et 0,88). La figure 1B montre que les extraits de dichlorométhane et d'acétate d'éthyle (taches R_f = 0,10, 0,53 et 0,69) et les extraits de méthanol (taches R_f = 0,63 et 0,74) contiennent des saponines (couleur jaune et verte).

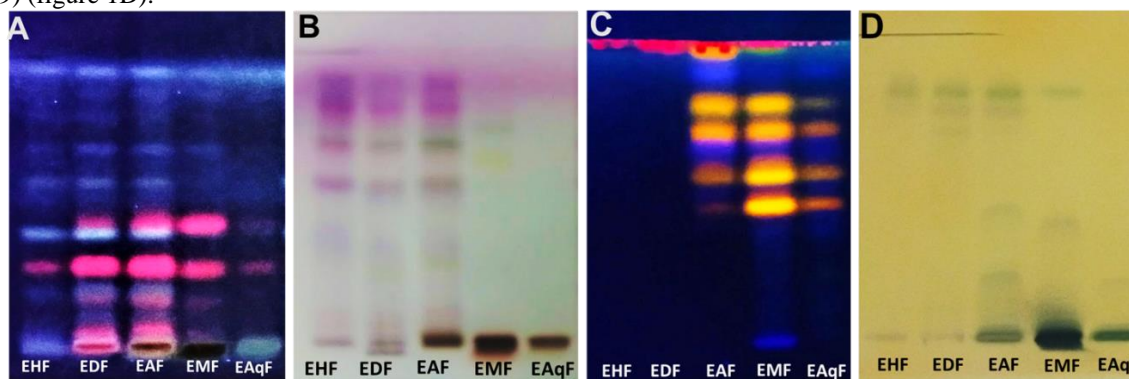
Détection des Flavonoïdes

La méthode de chromatographie sur couche mince à haute performance a été utilisée pour obtenir le profil chromatographique des flavonoïdes dans les extraits de feuilles (EHF, EDF, EAF, EMF et EAqF), comme le montre la figure 1C. Sous 366 nm, la plaque dérivée a révélé des points bleus, verts, jaunes, jaune-orange, jaune-verdâtre et fluorescents dans tous les échantillons de plantes. Le chromatogramme a montré que le nombre de flavonoïdes dans les extraits méthanoliques des feuilles différencie les différentes souches [3]. Il est connu que les flavonoïdes interagissent avec une variété de réactifs (produits naturels, chlorure d'aluminium) pour générer des complexes aux couleurs brillantes qui brillent sous UV/366 nm ou lumière visible. Des taches de couleur jaune (taches R_f = 0,46, 0,54, 0,68, 0,75) et jaune verdâtre (taches R_f = 0,96) sur la plaque ont révélé la présence de flavonols (figure 1C). Des zones bleues (taches R_f = 0,40, 0,61 et 0,87) ont été découvertes en raison de la présence de flavones, de flavone éthylée, d'isoflavones, de flavanones et de chalcones. L'apparition de taches vertes a montré la présence de flavanols et d'aurones. La caractérisation des flavonoïdes dans les extraits bruts a révélé que ces composants phénoliques sont

prédominants dans les extraits de feuilles, en particulier dans les extraits de méthanol (EMF). En conclusion, le réactif de Neu, qui rend les flavonoïdes en question sous forme de taches jaunes et brunes, a permis de démontrer la présence de flavonoïdes dans les feuilles étudiées. Sous l'impact des UV/366 nm, ces couleurs apparaissent plus vives et diversifiées [26].

Détection des tanins

Les tanins sont lumineux, comme beaucoup d'autres produits du métabolisme secondaire. Les tanins condensés acquièrent une couleur brun-vert [27]. Les tanins hydrolysables sont responsables des taches bleu-noir [28]. Plusieurs révélateurs spécifiques sont utilisés pour confirmer que ces fluorescences sont dues aux tanins (par exemple le sel bleu solide B et FeCl₃). Les tanins génèrent des complexes bien colorés à portée visible avec FeCl₃ [28]. Le FeCl₃ a démontré l'existence de tanins hydrolysables dans l'acétate d'éthyle, le méthanol et les extraits aqueux (taches Rf = 0,02 et 0,05) (Figure 1D). Ce réactif a également démontré l'existence de tanins condensés dans les extraits de feuilles de *L. velutina* en acétate d'éthyle et en méthanol (taches Rf = 0,18 ; 0,24 ; 0,36 ; 0,40 ; 0,72 et 0,79) (figure 1D).



EHF : extrait n-hexane des feuilles de *L. velutina* ; **EDF** : Extrait DCM des feuilles de *L. velutina* ; **EAF** : Extrait AcOEt des feuilles de *L. velutina* ; **EMF** : Extrait MeOH des feuilles de *L. velutina* ; **EAqF** : extrait aqueux des feuilles de *L. velutina*

Figure 23: Chromatogramme pour la détection des stérols et triterpènes (A), des saponines, stérols et triterpènes (B), des flavonoïdes (C) et des tanins (D)

En utilisant la chromatographie en couche mince à haute performance, les extraits de feuilles de *L. velutina* ont été criblés pour les métabolites secondaires tels que les stérols, les triterpènes, les flavonoïdes et les tanins. Les métabolites secondaires sont des substances ayant une activité biologique. Les activités thérapeutiques des feuilles de *L. velutina* pourraient s'expliquer par leur présence dans les extraits. En raison de leurs effets pharmacologiques potentiels et de leur viabilité commerciale, les qualités thérapeutiques des plantes ont été explorées dans le monde entier à la lumière des récentes avancées scientifiques [29]. De nombreuses plantes aromatiques et thérapeutiques contiennent des composants chimiques ayant une activité antioxydante (flavonoïdes, tanins, terpénoïdes) [21], [29], [30]. Il a été observé que les substances phénoliques suppriment l'amylase et la glucosidase liées à la peroxydation lipidique, au diabète de type 2 et à la régulation de la pression sanguine [31], [32].

Teneurs en composés phénoliques totaux, flavonoïdes totaux et tanins condensés

Le tableau 1 présente les teneurs en composés phénoliques totaux (CPT) et en flavonoïdes totaux (FT) de l'extrait de feuilles de *L. velutina* déterminé dans l'acétate d'éthyle (EAF), le méthanol (EMF) et l'eau (EAqF). Les concentrations phénoliques variaient de $135,6 \pm 2,1$ mg d'équivalent acide gallique/g de poids sec pour l'extrait d'acétate d'éthyle (EAF) à $534,0 \pm 2,9$ mg d'équivalent acide gallique/g de poids sec pour l'extrait de méthanol (EMF). La teneur en phénoliques totaux des feuilles de *L. velutina* était le plus élevé dans l'extrait de méthanol, suivi par les extraits aqueux et d'acétate d'éthyle. La teneur en phénoliques totaux des trois extraits a augmenté comme suit : extraits d'acétate d'éthyle ; extrait aqueux ; extrait méthanolique. Les écarts significatifs entre les résultats sont attribuables à la polarité variable des solvants employés et également à l'affinité entre les métabolites secondaires et le solvant d'extraction [33], [34]. Les phénoliques connus ayant des propriétés antioxydantes comprennent les acides phénoliques, les flavonoïdes et les procyanidines. La teneur en phénoliques totaux déterminé par la méthode de Folin-Ciocalteu ne donne pas une image précise de la qualité ou de la quantité des composants phénoliques. La teneur totale en flavonoïdes (FT) a évolué de $13,53 \pm 0,06$ mg d'équivalent quercétine/g de poids sec pour l'extrait aqueux à $59,39 \pm 0,39$ mg d'équivalent quercétine/g de poids sec pour l'extrait méthanolique. L'extrait méthanolique des feuilles de *L. velutina* est celui qui contient le plus de flavonoïdes totaux. Comme le montre le tableau 1, l'extrait aqueux a la plus grande teneur en flavonoïdes totaux, suivi de l'extrait

d'acétate d'éthyle et de l'extrait méthanolique. En plus des flavonoïdes et des acides phénoliques, les procyanidines (tanins condensés) jouent un rôle crucial dans la prévention des maladies humaines et le maintien d'une bonne santé dans la lutte contre les accidents cardiovasculaires [35]. La teneur en tanins condensés ou procyanidines (TC) a été déterminée par spectrophotométrie dans les extraits de feuilles de *L. velutina*. Les valeurs TC étaient comprises entre 11,37 et 86,93 mg d'équivalents catéchines/g de poids sec pour les extraits aqueux et méthanoliques, respectivement (Tableau 1). D'après le tableau 1, l'extrait brut de méthanol des feuilles de *L. velutina* contenait la plus forte concentration de procyanidines, suivi par l'acétate d'éthyle et les extraits aqueux, respectivement. Il y avait une relation linéaire ($r = 0,92$) entre les teneurs de procyanidines et de composés phénoliques totaux.

Tableau 1. Teneur en composés phénoliques totaux (CPT), en flavonoïdes totaux (FT) et en tanin condensés (TC)

Extraits	CPT (mg EAG/g masse sec)	FT (mg EQ/g masse sec)	TC (mg EC/g masse sec)
EAF	135.60 ± 2.09 ^e	53.52 ± 0.29 ^f	36.74 ± 0.32 ^g
EMF	534.00 ± 2.9 ^a	59.39 ± 0.39 ^c	86.93 ± 0.03 ^b
EAqF	159.10 ± 0.83 ^d	13.53 ± 0.06 ^h	11.37 ± 0.04 ⁱ

Des lettres différentes correspondent à une différence significative ($P < 0,05$).

Activités antioxydantes hydrophiles et lipophiles déterminées par le test du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

Les résultats pour les extraits et les standards sont présentés dans le tableau 2. La détermination de la CI_{50} pour chaque médicament doit être effectuée dans la gamme linéaire. Chaque jour d'analyse, une courbe d'étalonnage a été construite pour toutes les substances testées, et une gamme linéaire satisfaisante a été notée (Tableau 2). Selon une étude antérieure, l'absorbance du DPPH à 517 nm dans le méthanol et l'acétone a chuté de 20 % et 35 %, respectivement, à 25 degrés Celsius en présence de lumière. Cependant, aucun changement substantiel n'a été détecté pendant 150 minutes dans l'obscurité [36]. L'IAA a été calculé à l'aide de l'équation (5), où la concentration finale de DPPH dans la solution 0,10 mM était de 40 µg/mL. Le score IAA de l'acide gallique était le plus élevé, suivi de la catéchine et de l'acide ascorbique, qui étaient comparables l'un à l'autre et de Trolox (Trolox). Les effets antioxydants des échantillons de plantes sont liés à leurs composants bioactifs, les phénoliques étant les plus importants [37]. En raison de la plus grande complexité des molécules flavonoïdes, les relations structure-activité (RAS) des flavonoïdes sont souvent plus compliquées que celles des acides hydroxybenzoïques et hydroxycinnamiques. Le degré d'hydroxylation, la position des groupes hydroxyle et une double liaison associée à un $R_1 = OH$ (Figure 2) améliorent la capacité de piégeage des radicaux des flavonoïdes [38]. Le tableau 2 montre l'activité antioxydante hydrophile et lipophile des cinq extraits de feuilles de *L. velutina* étudiés. Comme le montre le tableau 2, les activités antioxydantes hydrophiles des trois types d'extraits de feuilles (EAF, EMF et EAqF) ont contribué de manière significative dans tous les cas. En revanche, les capacités antioxydantes lipophiles (EHF, EDF) ont été significativement moins importantes. Les résultats indiquent que le niveau d'activité antioxydante varie selon le type d'extrait. Des relations linéaires significatives existent entre l'activité antioxydante hydrophile et les teneurs en phénoliques totaux ($r = 0,74$), flavonoïdes ($r = 0,96$) et procyanidines ($r = 0,94$). Le test DPPH a révélé que parmi les extraits de feuilles examinés, l'extrait méthanolique présentait une activité antioxydante extrêmement forte. Pour le même échantillon, la valeur CI_{50} et l'indice DPPH (I %) ont fluctué en fonction de la concentration finale de DPPH, alors que la valeur IAA est restée constante [23]. Avec une valeur IAA comparable à celle de Trolox, l'extrait méthanolique a présenté une activité antioxydante significative. Cet extrait contenait également des concentrations importantes de composés phénoliques, de flavonoïdes et de procyanidines (tableau 1), les trois principaux antioxydants hydrophiles présents dans la nature [39]. Le manque de phénoliques dans les extraits à l'hexane et au dichlorométhane de feuilles peut expliquer leur incapacité à inhiber le DPPH. Plusieurs études épidémiologiques ont démontré que la consommation d'antioxydants peut avoir un impact substantiel sur la santé [39]. Les composés naturels dérivés des plantes ont été utilisés pour prévenir et traiter les maladies non transmissibles avec des effets indésirables et une toxicité faible [40]. L'individu souffrant d'hypertension est fréquemment stressé. En réponse au stress, l'organisme libère dans le sang une vague de substances chimiques, dont l'adrénaline et le cortisol. Ces substances accélèrent le rythme cardiaque et resserrent les vaisseaux sanguins, ce qui augmente la pression artérielle.

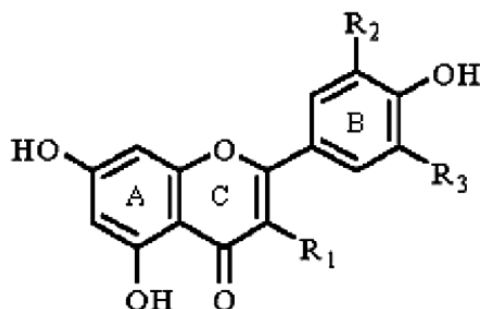


Figure 24 : structure de la molécule de flavonoïde. Quercétine : R1 et R2 = OH, et R3 = H ; la rutine est un glycoside de la quercétine où R1 = disaccharide, rutinose (β -1-L-rhamnosido-6-O-glucose).

Tableau 2. Les valeurs de l'indice d'activité antioxydante (IAA) avec la concentration finale de DPPH*

Extraits	I			II			III			Moyenne CI ₅₀	Moyenne IAA	SD
	R ²	^A CI ₅₀	IAA	R ²	CI ₅₀	IAA	R ²	CI ₅₀	IAA			
Acid gallique	0.9955	4.65	8.61	0.9967	4.63	8.64	0.9968	4.63	8.65	4.63	8.63 ^a	0.01
Catéchine	0.9922	11.64	3.44	0.9936	11.60	3.45	0.9944	11.61	3.44	11,60	3.44 ^b	0.02
Acid ascorbique	0.9981	11.94	3.35	0.9987	11.93	3.35	0.9989	12.07	3.31	11.98	3.34 ^c	0.08
Trolox	0.9987	15.16	2.64	0.9992	15.21	2.63	0.9994	15.25	2.62	15.21	2.63 ^d	0.05
EMF	0.9939	15.42	2.59	0.9940	15.34	2.61	0.9972	15.39	2.60	15.38	2.60 ^d	0.04
EAF	0.9915	51.68	0.77	0.9917	51.67	0.77	0.9964	51.59	0.78	51.64	0.77 ^e	0.05
EaQF	0.9978	103.29	0.39	0.9986	102.39	0.39	0.9993	98.52	0.41	101.40	0.39 ^f	2.54
EDF	0.9895	411.34	0.10	0.9925	410.34	0.10	0.9927	406.41	0.10	409.36	0.10 ^g	2.61
EHF	0.9856	546.98	0.07	0.9872	547.62	0.07	0.9874	545.08	0.07	546.56	0.07 ^g	1.32

I, II and III : Différents jours d'analyse ; r² : coefficient de linéarité ; SD : écart-type. Des lettres différentes correspondent à une différence significative (P < 0,05).

^A µg/mL

Conclusion

Cette étude démontre que les extraits de feuilles de *L. velutina* contiennent des microconstituants connus pour être des antioxydants. Les profils de la chromatographie en couche mince haute performance ont montré la présence de stérols, de terpènes, de tanins et de flavonoïdes. Les extraits acétate d'éthyle, méthanol et aqueux contiennent une abondance de composés phénoliques. La concentration des composés phénoliques dépend fortement des solvants d'extraction. L'étude quantitative révèle que les extraits de méthanol ont les plus fortes concentrations de composés phénoliques totaux, de flavonoïdes totaux et de tanins condensés. D'après la technique DPPH, les capacités antioxydantes des extraits de feuilles varient en fonction du solvant d'extraction. L'extrait méthanolique des feuilles de *L. velutina* présente la meilleure CI₅₀, avec une valeur de 15,42 g/mL. La relation entre la concentration en flavonoïdes et l'action antioxydante est substantielle. Près de 96 % de l'action de piégeage des radicaux libres est attribuable aux flavonoïdes totaux

Références

- Belemnaba L *et al.*, "Search for plants with antihypertensive potential in the biodiversity of Burkina Faso," *Rev. CAMES-Série Pharm. Méd. Trad. Afr.*, vol. 17, no. 1, pp. 33–40, 2014.
- O. G. /OUEDRAOGO (université de O. Nacoulma, "Medicinal Plants and Traditional Medical Practices in Burkina Faso," 1996, pp. 200–201.
- M. Koala *et al.*, "HPTLC Phytochemical Screening and Hydrophilic Antioxidant Activities of *Apium graveolens* L., *Cleome gynandra* L., and *Hibiscus sabdariffa* L. Used for Diabetes Management," *Am. J. Anal. Chem.*, vol. 12, no. 01, pp. 15–28, 2021, doi: 10.4236/ajac.2021.121002.
- V. L. Singleton, R. Orthofer, and R. M. Lamuela-Raventós, "Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent," *Methods Enzymol.*, vol. 299, pp. 152–178, Jan. 1999, doi: 10.1016/S0076-6879(99)99017-1.
- A. Maiga, K. E. Malterud, D. Diallo, and B. S. Paulsen, "Antioxidant and 15-lipoxygenase inhibitory activities of the Malian medicinal plants *Diospyros abyssinica* (Hiern) F. White (Ebenaceae), *Lannea velutina* A. Rich (Anacardiaceae) and *Crossopteryx febrifuga* (Afzel) Benth. (Rubiaceae)," *J. Ethnopharmacol.*, vol. 104, no. 1–2, pp. 132–137, 2006, doi: 10.1016/j.jep.2005.08.063.
- OMS, "Political Declaration of the Third High-Level Meeting of the General Assembly on the Prevention and Control of Non-Communicable Diseases. Report of the Director General," pp. 1–66, Jan. 2021, Accessed: Apr. 15, 2022. [Online]. Available:

<https://apps.who.int/iris/handle/10665/332070>

M. Adams and A. P. Jewell, "The use of complementary and alternative medicine by cancer patients," *Int. Semin. Surg. Oncol.*, vol. 4, no. 1, pp. 1–7, Apr. 2007, doi: 10.1186/1477-7800-4-10/METRICS.

Department of Health Statistics and Informatics, "Causes of death 2008 : data sources and methods," *World Health*, vol. 2010, no. September 2010, pp. 1–28, 2011.

S. S. Lim *et al.*, "A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990-2010: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010," *Lancet*, vol. 380, no. 9859, pp. 2224–2260, Dec. 2012, doi: 10.1016/S0140-6736(12)61766-8.

Ministère de la santé, "Rapport de l'enquête nationale sur la prévalence des principaux facteurs de risques commun aux maladies non transmissibles au Burkina Faso enquête STEP 2013," pp. 1–104, Jun. 2014.

K. Mi and B. Ao, "Evaluation of renal damage in adult hypertension in Conakry".

WHO, "Hypertension," 2021. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hypertension> (accessed Jun. 29, 2022).

S. J. B. Tougouma *et al.*, "Prevalence and knowledge of arterial hypertension in the elderly: Cross-sectional study conducted in bobo-dioulasso, burkina faso," *Pan Afr. Med. J.*, vol. 30, 2018, doi: 10.11604/pamj.2018.30.243.15997.

N. R. Madamanchi, I. Tchivilev, and M. S. Runge, "Genetic markers of oxidative stress and coronary atherosclerosis," *Current Atherosclerosis Reports*, vol. 8, no. 3, Curr Atheroscler Rep, pp. 177–183, May 2006. doi: 10.1007/s11883-006-0071-3.

F. Pourmorad, S. J. Hosseinimehr, and N. Shahabimajd, "Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants," *African J. Biotechnol.*, vol. 5, no. 11, pp. 1142–1145, 2006, Accessed: Nov. 09, 2020. [Online]. Available: <http://www.academicjournals.org/AJB>

R. Yu, S. Mandlekar, and A. N. T. Kong, "Molecular mechanisms of butylated hydroxyanisole-induced toxicity: Induction of apoptosis through direct release of cytochrome c," *Mol. Pharmacol.*, vol. 58, no. 2, pp. 431–437, 2000, doi: 10.1124/mol.58.2.431.

O. Pelkonen, Q. Xu, and T. P. Fan, "Why is research on herbal medicinal products important and how can we improve its quality?," *J. Tradit. Complement. Med.*, vol. 4, no. 1, pp. 1–7, Jan. 2014, doi: 10.4103/2225-4110.124323.

D. Pare, J. Y. N'do, S. Guenne, M. Nikiema, and A. Hilou, "Phytochemical Study and Biological Activities of Two Medicinal Plants used in Burkina Faso: *Lannea velutina* A. Rich (Anacardiaceae) and *Ximenia americana* L. (Olacaceae)," *Asian J. Chem. Sci.*, vol. 6, no. 3, pp. 1–9, 2019, doi: 10.9734/ajocs/2019/v6i318997.

Odile Germaine NACOULMA/OUEDRAOGO, "Medicinal Plants and Traditional Medical Practices in Burkina Faso," 1996.

L. M. E. B.-K. Wendkouni *et al.*, "Phytochemical and biological investigations of extracts from the roots of *Cocos nucifera* L. (Arecaceae) and *Carica papaya* L. (Caricaceae), two plants used in traditional medicine," *African J. Biochem. Res.*, vol. 15, no. 2, pp. 28–35, Jul. 2021, doi: 10.5897/AJBR2020.1107.

A. Noba *et al.*, "Carotenoids identification by HPTLC-MS and vitamin C content of fruits of *Saba senegalensis* (A. DC) Pichon," *African J. Pure Appl. Chem.*, vol. 14, no. 3, pp. 60–68, Jul. 2020, doi: 10.5897/AJPAC2020.0832.

D. Heimler, P. Vignolini, M. G. Dini, F. F. Vincieri, and A. Romani, "Antiradical activity and polyphenol composition of local Brassicaceae edible varieties," *Food Chem.*, vol. 99, no. 3, pp. 464–469, 2006, doi: 10.1016/j.foodchem.2005.07.057.

R. Scherer and H. T. Godoy, "Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method," *Food Chem.*, vol. 112, no. 3, pp. 654–658, 2009, doi: 10.1016/j.foodchem.2008.06.026.

J. Senguttuvan and P. Subramaniam, "HPTLC Fingerprints of Various Secondary Metabolites in the Traditional Medicinal Herb *Hypochoeris radicata* L.," 2016, doi: 10.1155/2016/5429625.

B. K. Guy, M. B. J. Akhanovna, D. D. Odette, G. S. Jonathan, and B. Yves-Alain, "Sur la composition phytochimique qualitative des extraits bruts hydrométhanoliques des feuilles de 6 cultivars de *Manihot esculenta* crantz de Côte d'Ivoire," *Eur. J. Sci. Res.*, vol. 45, no. 2, pp. 200–211, 2010.

W. Hilderbert and Sabine Bladt, "Plant drug analysis : a thin layer chromatography atlas - PDF Drive," 1996. <https://www.pdfdrive.com/plant-drug-analysis-a-thin-layer-chromatography-atlas-e157366245.html> (accessed Oct. 02, 2020).

M. E. Pascual, M. E. Carretero, K. V. Slowing, and A. Villar, "Simplified screening by TLC of plant drugs," *Pharm. Biol.*, vol. 40, no. 2, pp. 139–143, 2002, doi: 10.1076/phbi.40.2.139.5849.

G. C. Jagetia, "The Phytochemical and Thin Layer Chromatography Profile of Ethnomedicinal Plant *Helicia Nilagirica* (Bedd)," *Int. J. Pharmacogn. Chinese Med.*, vol. 2, no. 2, 2018, doi: 10.23880/ipcm-16000131.

J. Ye, L. Feng, J. Xiong, and Y. Xiong, "Ultrasound-assisted extraction of corn carotenoids in ethanol," *Int. J. Food Sci. Technol.*, vol. 46, no. 10, pp. 2131–2136, Oct. 2011, doi: 10.1111/J.1365-2621.2011.02727.X.

M. Nitiéma *et al.*, "Endothelium-Independent Vasorelaxant Effects of Anthocyanins-Enriched Extract from *Odontonema strictum* (Nees) Kuntze (Acanthaceae) Flowers: Ca²⁺ Channels Involvement," *European J. Med. Plants*, vol. 29, no. September, pp. 1–11, 2019, doi: 10.9734/ejmp/2019/v29i330155.

O. N. Ani, S. C. Udedi, B. A. Anajekwu, K. K. Asogwa, and K. U. Ekwealor, "Inhibitory potential and antidiabetic activity of leaf extracts of *Vitex doniana*," *African J. Biochem. Res.*, vol. 14, no. 3, pp. 72–80, Jul. 2020, doi: 10.5897/AJBR2020.1098.

Composition chimique et activité antioxydante des huiles essentielles obtenues par co-distillation de *Mentha piperita*, *Cymbopogon citratus* et *Hyptis suaveolens*

Nébié Bily¹, Dabiré Constantin M.^{1,2}, Sosso Siaka¹, Palé Eloi², Nébié Roger³ et Duez Pierre⁴

¹ Laboratoire de Chimie et Energies Renouvelables, Université Nazi Boni, 01 BP 1091 Bobo 01, Burkina Faso

² Laboratoire de Chimie Organique et de Physique Appliquées. Université Joseph Ki-Zerbo. 01 BP 7021 Ouaga 01, Burkina Faso

³ CNSRT/Institut de Recherche en Sciences Appliquées et Technologies (IRSAT)

⁴ Service de Chimie Thérapeutiques et de Pharmacognosie, Faculté de Médecine et Pharmacie, Université de Mons, Belgique

Résumé : L'objectif de cette étude était d'étudier l'effet de la co-distillation de *Mentha piperita*, *Cymbopogon citratus* et *Hyptis suaveolens* sur la composition chimique et l'activité antioxydante de leurs huiles essentielles. Les huiles essentielles ont été obtenues par hydrodistillation des feuilles sèches de chaque plante, séparément, puis du mélange de ces feuilles dans les proportions en masse 80/20 et 50/50 respectivement pour *C. citratus/Mentha piperita* et *C. citratus/H. suaveolens*. Elles ont été analysées par CPG/MS puis leur activité antioxydante a été évaluée en microgramme d'équivalent d'acide ascorbique par millilitre d'huile essentielle ($\mu\text{gEAA/ml}$) par la méthode de DPPH. L'huile essentielle du mélange *C. citratus/M. piperita* contenait majoritairement le citral (49,26%) et le β -myrcène (10,98%). Celle du mélange *C. citratus/H. suaveolens* contenait majoritairement la pipéritone (40,80%), le 1,8-cinéole (24,64%), le *p*-menth-4(8)-ène (13,20%) et le limonène (6,09%). L'huile essentielle de *C. citratus* était dominée par le citral (73,77%) et le β -myrcène (13,66%). Celle de *M. piperita* contenait majoritairement le menthol (31,54%), la menthone (20,27%), le menthofurane (15,10%) et l'acétate de menthyle (8,59%). Celle d'*H. suaveolens* contenait majoritairement le 1,8-cinéole (39,58%), le sabinène (12,06%), le β -pinène (7,73%), l' α -terpinolène (6,72%) et le β -caryophyllène (7,49%). Les huiles essentielles des mélanges *C. citratus/M. piperita* et *C. citratus/H. suaveolens* ont présenté les meilleures activités antioxydantes respectivement de 40133,33 et 12158,33 contre 12102,78 ; 11727,78 ; 10005,56 $\mu\text{g EAA/ml}$ respectivement pour celle de *H. suaveolens*, *M. piperita* et *C. citratus*. Ces résultats montrent que la co-distillation a permis de renforcer l'activité antioxydante des huiles essentielles de ces plantes. Les huiles essentielles de ces mélanges pourraient constituer une alternative à l'usage des antioxydants synthétiques.

Mots clés : Co-distillation, huile essentielle, composition chimique, activité antioxydante.

Chemical composition and antioxidant activity of essential oils obtained by co-distillation of *Mentha piperita*, *Cymbopogon citratus* and *Hyptis suaveolens*

Abstract : The objective of this study was to investigate the effect of co-distillation of *Mentha piperita*, *Cymbopogon citratus* and *Hyptis Suaveolens* on the chemical composition and antioxidant activity of their essential oils. The essential oils were obtained by hydrodistillation of the dry leaves of each plant separately, then of the mixture of these leaves in the mass proportions 80/20 and 50/50 respectively for *C. citratus/Mentha piperita* and *C. citratus/H. suaveolens*. They were analyzed by GC/MS and then their antioxidant activity was evaluated in micrograms of ascorbic acid equivalent per milliliter of essential oil ($\mu\text{gEAA/ml}$) by the DPPH method. The essential oil of the *C. citratus/M. piperita* mainly contained citral (49.26%) and β -myrcene (10.98%). That of the *C. citratus/H. suaveolens* mainly contained piperitone (40.80%), 1,8-cineole (24.64%), *p*-menth-4(8)-ene (13.20%) and limonene (6.09%). The essential oil of *C. citratus* was dominated by citral (73.77%) and β -myrcene (13.66%). That of *M. piperita* mainly contained menthol (31.54%), menthone (20.27%), menthofuran (15.10%) and methyl acetate (8.59%). That of *H. suaveolens* mainly contained 1,8-cineole (39.58%), sabinene (12.06%), β -pinene (7.73%), α -terpinolene (6.72%) and β -caryophyllene (7.49%). The essential oils of the *C. citratus/M. piperita* and *C. citratus/H. suaveolens* exhibited the best antioxidant activities of 40133.33 and 12158.33 respectively compared with 12102.78; 11727.78 and 10005.56 $\mu\text{g EAA/ml}$ respectively for that of *H. suaveolens*, *M. piperita* and *C. citratus*. These results show that co-distillation has enhanced the antioxidant activity of the essential oils of these plants. The essential oils in these blends could constitute an alternative to the use of synthetic antioxidants.

Keywords : Co-distillation, essential oil, chemical composition, antioxidant activity

1. Introduction

Les plantes aromatiques représentent un potentiel économique important pour les industries grâce à la découverte progressive des propriétés biologiques de leurs huiles essentielles. Il s'agit notamment des propriétés anti-inflammatoires, antiseptiques, antifongiques, bactéricides, insecticides, insectifuges,

tonifiantes, stimulantes, calmantes, antioxydantes, etc (Bassolé et *al.*, 2003 ; Ilboudo et *al.*, 2010). Du fait des propriétés **aromatisantes** et **antioxydantes** que possèdent les huiles essentielles de certaines plantes aromatiques et de leur faible toxicité comparée à celle des additifs alimentaires synthétiques (Bassolé et *al.*, 2001), elles pourraient constituer une alternative pour les industries agroalimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques à l'usage des antioxydants synthétiques qui de plus en plus sont soupçonnés d'avoir des effets néfastes sur l'homme et l'environnement (Kumar et *al.*, 2008) et aussi par le regain d'une volonté populaire de consommer des produits « bio ». Malheureusement, certaines contraintes limiteraient l'usage de ces substances naturelles sur le plan industriel. Il s'agit entre autres de leur faible rendement d'extraction et de la très grande consommation en énergie lors de leur extraction, ce qui rend leur prix exorbitant (Nébié et *al.*, 2009). Il y'a aussi la nécessité d'utiliser des faibles doses afin de maintenir la sécurité du produit et sa durée de vie utile tout en diminuant les aspects sensoriels de l'huile essentielle dans le produit fini (Gutierrez et *al.*, 2009). Selon plusieurs auteurs, l'usage des combinaisons d'huiles essentielles permettraient dans certains cas de renforcer leur efficacité (Nébié et *al.*, 2009 ; Gutierrez et *al.*, 2009). De même, selon Hay (2015), la co-distillation (ou distillation simultanée) des plantes aromatiques permettrait d'obtenir des huiles essentielles contenant une diversité de molécules ; ce qui pourrait permettre d'améliorer leurs propriétés biologiques. Cette voie d'obtention des mélanges d'huiles essentielles qui semble être plus économique en termes de consommation d'énergie et de temps d'extraction reste très peu étudiée.

Les plantes aromatiques telles que *Mentha piperita* L. et *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf sont largement utilisées par les populations Burkinabès pour aromatiser les boissons (jus de bissap, gingembre, yaourt, thé, etc.). Des études antérieures ont montré que les huiles essentielles de ces deux plantes sont potentiellement antioxydantes (Bayala, 2014 ; Abdala et Chebbour, 2014). Quant à *Hyptis suaveolens* (L) Poit., elle est une plante aromatique plutôt connue pour ses propriétés insectifuges et insecticides (Keita et *al.*, 2001). Elle est aussi utilisée comme boisson tonifiante. Les propriétés antioxydantes des huiles essentielles de cette plantes n'ont pas fait l'objet d'étude au Burkina Faso. De plus, aucune étude n'a été menée sur la co-distillation des huiles de ces trois plantes ci-dessus citées. Cette présente étude a donc pour objectif d'étudier l'effet de la co-distillation de ces trois plantes sur la composition et l'activité antioxydante de leurs huiles essentielles.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des feuilles sèches des plantes *Mentha piperita* L., *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf et *Hyptis suaveolens* (L) Poit. Les plantes ont été récoltées en Aout 2019 au jardin du LACER, situé à l'Université Nazi-Boni de Bobo-Dioulasso (Latitude : 11°12'N ; longitude : 4°24'W). Elles ont été séchées à l'abris de la lumière pendant sept jours à la température ambiante avant d'être utilisées pour l'extraction des huiles essentielles.

2.2. Méthodes

2.2.1. Extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont été obtenues par hydrodistillation avec un appareil de type Clevenger à partir des feuilles sèches de chaque plante, séparément, puis du mélange de ces feuilles dans les proportions en masse 80/20 et 50/50 respectivement pour *C. citratus* / *Mentha piperita* et *C. citratus* / *H. suaveolens*. Le rendement d'extraction de chaque huile essentielle a été obtenu à partir du rapport de la masse d'huile essentielle obtenue par celle de la matière végétale sèche utilisée (Likibi et *al.*, 2015).

2.2.2. Détermination de la composition chimique des huiles essentielles

2.2.2.1. Analyse chimique

Les huiles essentielles ont été analysées par chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse. Un chromatographe de type Hewlett Packard (série HP 6890), équipé d'une colonne capillaire HP-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm épaisseur de film), d'un détecteur FID réglé à 250°C et alimenté par un mélange de gaz H₂ / air a été utilisé. Le mode d'injection est split. Le gaz vecteur utilisé est l'azote avec un débit de 1,7 ml/min. La température de la colonne est programmée à raison d'une montée de 4 °C / min de 50°C à 250 °C pendant 5 min. L'appareil est piloté par un système informatique de type « HP Chemstation » gérant le fonctionnement de l'appareil et permettant de suivre l'évolution des analyses chromatographiques. Le couplage CG-SM a été réalisée sur un chromatographe Hewlett Packard (HP 6890) couplé à un spectromètre de masse (série HP 5973). La fragmentation est effectuée par impact électronique à 70 eV. La colonne utilisée est un capillaire de type HP-5SM (30 m

x 0,25 mm x 0,25 µm). La température de la colonne est programmée à raison d'une montée de 4 °C/min de 50 à 250 °C pendant 5 min. Le gaz vecteur utilisé est l'hélium dont le débit est fixé à 1,7 ml / min. Le mode d'injection est split.

2.2.2.2. Identification des constituants des huiles essentielles

L'identification des différents constituants des huiles essentielles a été effectuée d'une part à l'aide d'un système de traitement de données qui permet de comparer les spectres de masse des différents constituants avec ceux existant dans une banque de données (NIST, 2002) et d'autre part par la comparaison de leur indice de rétention (RI) à ceux de la littérature (Babushok et al. 2011).

2.2.3. Détermination de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante des huiles essentielles a été déterminée par la méthode de DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl) décrite par Dabiré et al. (2011) avec une légère modification. Une courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (AA) utilisé comme référence a été établie. A partir de l'équation de cette courbe d'étalonnage ($y = -0,0018x + 0,4627$; $R^2 = 0,9976$), les teneurs en antioxydants des huiles essentielles ont été déterminées puis exprimées en microgramme d'équivalent d'acide ascorbique par millilitre d'huile essentielle (µg EAA/ml).

2.2.4. Analyse statistique des données

Les résultats des tests antioxydants ont été soumis à l'analyse de variance (ANOVA) à l'aide du logiciel SPSS 25.0. La comparaison des potentiels antioxydants a été effectuée à l'aide du test de Student, Newman et Keuls au seuil de 5%.

3. Résultats et discussion

3.1. Résultats

3.1.1. Rendement d'extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles de *M. piperita*, *C. citratus*, *H. suaveolens* et des mélanges *C. citratus* / *M. piperita* et *C. citratus* / *H. suaveolens* ont été extraites avec des rendements respectifs de 1,29 ; 1,11 ; 0,37 ; 1,00 et 0,75%.

3.1.2. Composition chimique des huiles essentielles

Les résultats de l'analyse chimique des cinq huiles essentielles sont mentionnés dans le tableau ci-dessous. L'huile essentielle de *C. citratus* contenait majoritairement le géraniol (41,49%), le néral (32,83%) soit 74,3% de citral, le β-myrcène (13,66%) et le géraniol (3,49%). De celle de *M. piperita*, le menthol (31,54%), la menthone (20,27%), le menthofurane (15,10%), l'acétate de menthyle (8,59%) et le 1,8-cinéole (3,86%) ont été identifiés comme composés majoritaires tandis que celle de *H. suaveolens* contenait majoritairement le 1,8-cinéole (39,58%), le sabinène (12,06%), le β-pinène (7,73%), le β-caryophyllène (7,49%), l'α-terpinolène (6,72%) et l'α-pinène (3,48%). Quant aux huiles essentielles des mélanges, celle du mélange *C. citratus* / *M. piperita* contenait majoritairement le géraniol (26,90%), le néral (22,36%), le β-myrcène (10,98%), le menthol (5,90%), la menthone (4,50%), le 1,8-cinéole (4,26%), le p-cymène (3,30%), le menthofurane (2,87%), l'α-pinène (2,17%) et le géraniol (2,05%) tandis que celle du mélange *C. citratus* / *H. suaveolens*, ne que contenait majoritairement que la pipéritone (40,80%), le 1,8-cinéole (24,64%), le p-menth-4(8)-ène (13,20%), le D-limonène (6,09%) et l'α-pinène (4,73%).

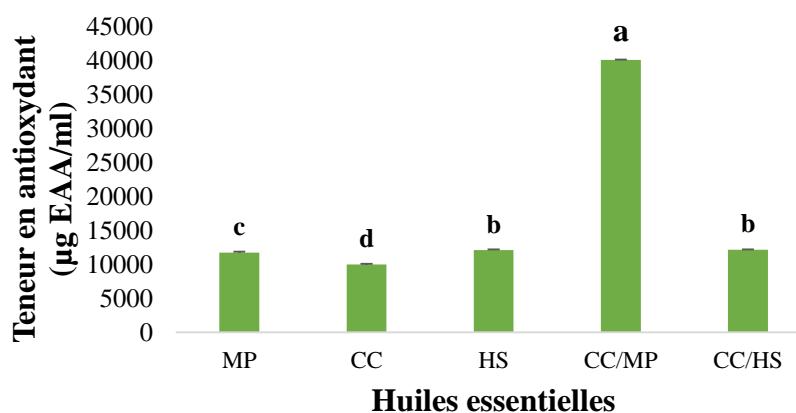
Tableau : Composition chimique des huiles essentielles de *C. citratus*, *M. piperita*, *H. suaveolens* et de leurs mélanges *C. citratus* / *M. piperita* et *C. citratus* / *H. suaveolens* obtenus par codistillation

RI	Composés (%)	<i>C. citratus</i> (CC)	<i>M. piperita</i> (MP)	<i>H. suaveolens</i> (HS)	Mélange CC/MP	Mélange CC/HS
921,5	3-méthylbutanal	-	-	-	-	0,96
1025,4	α-pinène	-	0,88	3,48	2,17	4,73
1026,6	α-thujène	-	-	0,33	-	-
1116,8	β-pinène	-	1,06	7,73	0,24	-
1127,7	sabinène	-	0,55	12,06	-	-
1137,7	<i>P</i> -menth-4(8)-ène	-	-	-	-	13,20
1153,3	3-carène	-	-	0,30	-	-
1164,4	β-myrcène	13,66	0,21	1,07	10,98	0,13
1169,6	α-phellandrène	-	-	0,26	1,51	0,26
1185,1	α-terpinène	-	-	0,77	-	0,12
1206,2	D-limonène	-	1,99	1,99	0,98	6,09
1214,2	β-phellandrène	-	-	-	0,22	-

1219,5	1,8-cinéole	-	3,86	39,58	4,26	24,64
1236,1	cis- β -ocimène	0,36	-	-	0,26	-
1249,5	γ -terpinène	-	0,21	1,09	0,32	0,17
1253,1	trans- β -ocimène	0,25	-	-	-	-
1274,2	<i>p</i> -cymène	-	0,21	-	3,30	0,44
1274,2	<i>o</i> -cymène	-	-	0,57	-	-
1287,8	α -terpinolène	-	-	6,72	-	0,13
1340,3	6-méthylhept-5-èn-2-one	1,14	-	-	1,74	-
1398,1	3-octanol	-	0,46	0,15	-	-
1413,8	myroxide	0,22	-	-	-	-
1423,3	β -pinène oxide	0,20	-	-	-	-
1454,3	1-octèn-3-ol	-	-	0,86	-	-
1468,8	menthone	-	20,27	-	4,50	-
1481,5	citronellal	0,17	-	-	-	-
1486,8	menthofurane	-	15,10	-	2,87	-
1511,3	trans-chrysanthémal	-	-	-	0,22	-
1551,2	linalool	1,14	-	-	1,20	-
1567,3	acétate de menthyle	-	8,59	-	1,55	-
1574,2	isonéral	1,46	-	-	1,11	-
1577,1	isopulégol	-	0,14	-	-	-
1601,3	2-undecanone	0,39	-	-	-	-
1607,1	terpinèn-4-ol	-	0,57	1,65	0,51	0,20
1646,4	menthol	-	31,54	-	5,90	-
1651,2	pulégone	-	1,31	-	1,01	-
1667,9	(E)- β -farnesène	-	0,19	-	-	-
1677,3	δ -terpinéol	-	0,14	-	-	-
1685,9	néral	32,83	-	-	22,36	-
1693,7	trans-carvéol	-	-	-	0,21	-
1701,8	α -terpinéol	-	0,22	-	-	1,52
1712,0	germacrène D	-	0,71	1,43	-	-
1735,7	pipéritone	-	0,30	-	0,38	40,80
1737,6	carvone	-	0,59	-	-	-
1738,2	géralial	41,49	-	-	26,9	-
1771,4	citronellol	0,31	-	-	0,22	-
1805,5	nérol	0,21	-	-	-	-
1811,8	2-tridecanone	0,23	-	-	0,24	-
1852,5	géraniol	3,49	-	-	2,05	0,24

3.1.3. Activité antioxydante des huiles essentielles

Les résultats de l'activité antioxydante des cinq huiles essentielles sont présentés par la **figure 1**.



Les bandes suivies de la même lettre alphabétique ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% selon le test de Student, Newman et Keuls. MP : *M. piperita* ; CC : *C. citratus* ; HS : *H. suaveolens* ; CC/MP : mélange de *C. citratus* et *M. piperita* ; CC/HS : mélange de *C. citratus* et *H. suaveolens*

Figure 3 : Activité antiradicalaire des huiles essentielles

Le test au DPPH révèle que toutes les huiles essentielles possèdent un pouvoir réducteur des radicaux DPPH^{*}. Ce pouvoir varie d'une huile essentielle à une autre. Ainsi, l'huile essentielle du mélange CC/MP s'est avérée la plus riche en antioxydants ($40133,33 \pm 78,57 \mu\text{g EAA/ml}$), suivis de celle du mélange CC/HS ($12158,33 \pm 39,28 \mu\text{g EAA/ml}$), de *H. suaveolens* ($12102,78 \pm 117,85 \mu\text{g EAA/ml}$), *M. piperita* ($11727,78 \pm 137,49 \mu\text{g EAA/ml}$) et enfin de celle *C. citratus* ($10005,56 \pm 58,92 \mu\text{g EAA/ml}$). L'analyse de variance (ANOVA) montre une différence hautement significative ($P=0,00 < 0,05$) entre les teneurs en antioxydants de l'huile essentielle du mélange CC/MP et celles des essences des deux plantes extraites séparément. Cependant une différence non significative a été notée entre la teneur en antioxydants de l'huile essentielle du mélange CC/HS et celle de l'*H. suaveolens* mais reste peu significative par rapport à celle de *C. citratus*.

3.2. Discussion

L'huile essentielle de *C. citratus* contenait 74,32% de citral. Cette molécule est caractéristique du *lemogras*, quelle que soit l'origine géographique. Le β -myrcène (13,66%) est également un monoterpène hydrocarboné caractéristique des essences de *C. citratus*. Cette composition s'apparente à celles du Centre du Burkina Faso obtenues par Djibo (2000) et par Bayala (2014). La composition chimique de l'huile essentielle de *M. piperita* dominée par le menthol, la menthone et le menthofurane est comparable à celles obtenues dans plusieurs pays (Mahammed et al., 2012 ; Likibi et al., 2015). Contrairement aux essences de *C. citratus* et *M. piperita*, une variation qualitative très importante a été constatée entre le chémotype de l'huile essentielle d'*Hyptis suaveolens* de notre étude et ceux rapportés dans la littérature (Ngom et al., 2014 ; Djibo et al., 2000 ; Felicia Johnson et al., 2018 ; Eshilokun et al., 2005). En effet, quatre composés majoritaires (β -caryophyllène, sabinène, terpinolène et pinène) de l'huile essentielle de cette plante ont été identifiés et à des teneurs importantes dans les différents chémotypes étudiés au Burkina Fasso, au Sénégal, en Côte d'Ivoire et au Nigéria. Toutefois, dans l'huile essentielle de l'*Hyptis suaveolens* du Bénin, Soumanou et al. (2020) ont identifié le 1,8-cinéole comme l'un des constituants majoritaires mais à une teneur (12,11%) trois fois inférieure à celle de notre étude. L'huile essentielle de l'*Hyptis suaveolens* de notre étude s'avère donc différente de celles rencontrées dans la littérature à notre connaissance. L'huile essentielle du mélange *C. citratus* / *M. piperita* contenait tous les constituants majoritaires des huiles essentielles des deux plantes prises séparément mais à des teneurs plus faibles. Un effet de dilution pourrait expliquer cette diminution des proportions des molécules. Une étude antérieure sur la co-distillation des plantes Thym-Souci-Romarin et Thym-Romarin a révélé cette tendance (Hay, 2015). Contrairement à l'huile essentielle du mélange *C. citratus* / *M. piperita*, certains composés majeurs des huiles essentielles des plantes *C. citratus* et *H. suaveolens* extraites séparément n'ont pas été identifiés dans l'huile essentielle de leur mélange tandis que de nouveaux composés et majeurs se sont formés. Ainsi, les composés majoritaires de l'huile essentielle de *C. citratus* tels que le β -myrcène (13,66%), le néral (32,83%), le géranial (41,49%) n'ont pas été identifiés dans l'essence du mélange. Il en est de même pour le β -pinène (7,73%), le β -caryophyllène (7,49%), le sabinène (12,06%) et l' α -terpinolène (6,72%) constituants majoritaires de l'huile essentielle d'*Hyptis suaveolens*. La pipéritone (40,80%) et le *p*-menth-4(8)-ène (13,20%), constituants majoritaires de l'huile essentielle du mélange n'ont pas été identifiés dans les essences des deux plantes co-distillées. Les différentes modifications chimiques observées dans l'huile essentielle du mélange seraient dues à des réactions chimiques qui ont eu lieu au cours de l'extraction sous l'influence de certains paramètres tels que la température et le pH (Figueredo, 2007 ; Handa et al., 2008). Ainsi, la formation de la pipéritone pourrait provenir de la cyclisation du néral et du géranial (**Figure 2**). Quant au *p*-menth-4(8)-ène, il pourrait être issu de la cyclisation du β -myrcène, du réarrangement du β -pinène et du sabinène (**figure 3**).

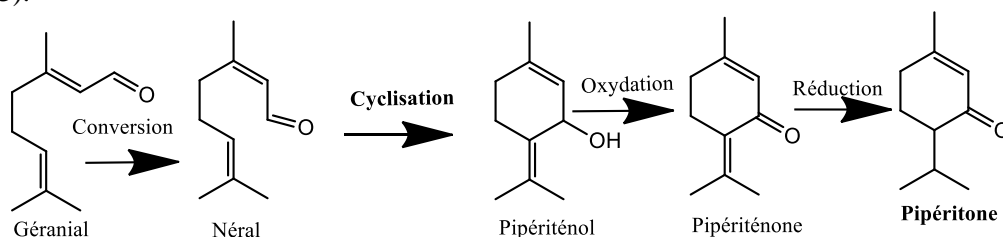


Figure 2 : Formation de la pipéritone

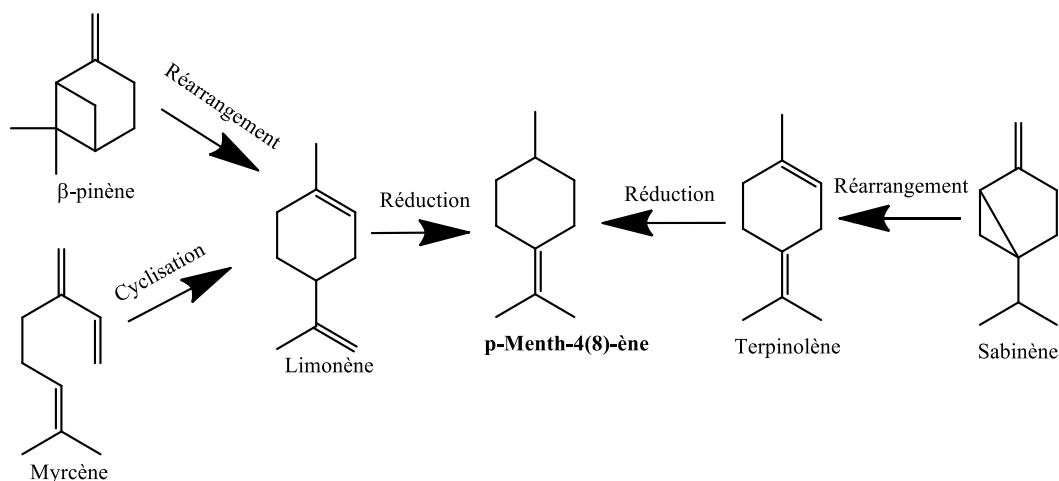


Figure 3 : Formation du *p*-menth-4(8)-ène

Les cinq huiles ont présenté une forte activité antioxydante. Cette activité pourrait être due à leur forte teneur en monoterpènes (variant de 87,74 à 96,79 %) qui sont connus comme agents antioxydants. Ainsi, la forte teneur en menthol dans l'huile essentielle de *M. piperita* pourrait être à l'origine de l'activité antioxydante de celle-ci. En effet, le menthol possédant un hydrogène actif dans sa structure réduirait le radical DPPH' par transfert d'hydrogène (Kpadenou *et al.*, 2019). Les aldéhydes et les alcools tels que le citral et le géranol seraient aussi à l'origine de l'activité antioxydante des huiles essentielles de *C. citratus* (Bayala *et al.*, 2018). Des études antérieures ont également mis en évidence l'efficacité antioxydante de l'huile essentielle de *C. citratus* (Bayala, 2014) et de celle de *M. piperita* (Abdala et Chebbour, 2014). L'activité antioxydante de l'huile essentielle de l'*H. suaveolens* serait due à la présence des composés majoritaires tels que le pinène, le sabinène, le terpinolène et le caryophyllène. En effet, grâce aux groupements chromophores que possèdent ces composés, ils pourraient réduire le radical DPPH' par transfert d'électrons. Les huiles essentielles des mélanges obtenues par co-distillation se sont révélées plus antioxydantes que celles des plantes correspondantes extraites séparément. Ainsi, l'huile essentielle du mélange *C. citratus* / *M. piperita* a vu son potentiel antioxydant quadruplé par rapport à ceux des essences des deux plantes prises séparément. Un effet de synergie des différents constituants des huiles essentielles des deux plantes pourrait être à l'origine de cette efficacité. Quant à celle du mélange *C. citratus* / *H. suaveolens*, son potentiel antioxydant n'est pas significativement différent de ceux des huiles essentielles des deux plantes prises séparément. L'activité antioxydante de cette dernière pourrait être liée à la présence des nouveaux composés formés tels que la pipéritone et le *p*-menth-4(8)-ène. En effet, selon Kpadonou *et al.* (2019) la pipéritone réduirait le radical DPPH' par transfert d'électron. Le limonène également contribuerait également à l'amélioration de l'activité antioxydante des huiles essentielles selon Alessio *et al.* (2014).

4. Conclusion

La présente étude a montré que la composition chimique des huiles essentielles obtenues par co-distillation présente une diversité moléculaire très importante par rapport à celles des plantes prises séparément. Les huiles essentielles des mélanges *C. citratus* / *M. piperita* et *C. citratus* / *H. suaveolens* ont présenté les meilleures activités antioxydantes respectivement de 40133,33 et 12158,33 contre 12102,78 ; 11727,78 ; 10005,56 µg EAA/ml respectivement pour celles de *H. suaveolens*, *M. piperita* et *C. citratus*. Ces résultats montrent que la co-distillation a permis de renforcer l'activité antioxydante des huiles essentielles de ces plantes. Les huiles essentielles de ces mélanges pourraient constituer une alternative à l'usage des antioxydants synthétiques.

Références bibliographiques

1. Alessio P.A., Bisson J-F., Béné M.C., 2014. Anti-stress effects of d-limonene and its metabolite perillyl alcohol, *Rejuvenation Res.*, **17**(2): 145-149. DOI: <https://doi.org/10.1089/rej.2013.1515>.
2. Babushok V. I., Linstrom P. J., and Zenkevich I. G. : Retention Indices for Frequently Reported Compounds of Plant Essential Oils. *J. Phys. Chem. Ref. Data*, Vol. 40, No. 4, 2011.

3. Bassolé I.H.N., Ouattara A.S., Nébié R. H. C., Ouattara A.C., Kaboré Z.I. et Traoré A.S., 2001. Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles et des fleurs de *Cymbopogon proximus* (Stapf) et *Ocimum canum* (Sims). *Pharm. Méd. Trad. Afr.*, 11 : 37-51.
4. Bassolé I.H.N., Ouattara A.S., Nébié R. H. C., Ouattara A.C., Kaboré Z.I. et Traoré A.S., 2003. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Lippia multiflora* and *Lippia chevalieri* from Burkina Faso. *Phytochemistry*, (62) ; 209-212.
5. Bayala B. Thèse (2014) : Etude des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, anti-prolifératives et anti-migratoires des huiles essentielles de quelques plantes médicinales du Burkina Faso sur les lignées cellulaires du cancer de la prostate et de glioblastomes.
6. Dabiré C. M., Nebié R. H. C., Belanger A., Nacro M. et Sié Sib F. : Effet du séchage de la matière végétale sur la composition chimique de l'huile essentielle et l'activité antioxydante d'extraits d'*Ocimum basilicum* L. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 5(3): 1082-1095, June 2011.
7. Djibo A. K., (2000) ; Thèse : Analyse des huiles essentielles de quelques plantes de la flore du Burkina Faso appartenant aux familles des Lamiacées (*Hyptis spicigera* Lam. ; *Hyptis suaveolens* Poit., *Ocimum americanum* L.) et des Poacées (*Cymbopogon schoenanthus* (L.) Spreng, *Cymbopogon giganteus* Chiov et *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf.
8. Eshilokun A. O., Kasali A. A., and Giwa-ajeniya A. O., Chemical composition of essential oils of two *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. leaves from Nigeria. *Flavour and fragrance journal*, (2005) 20, 528-530.
9. Felicia Johnson et al., (2018) : Bioefficacité des Huiles Essentielles de trois Espèces Végétales (*Ocimum Gratissimum*, *Ocimum Canum* et *Hyptis Suaveolens*) de la Famille des Labiees dans la Lutte Contre *Sitophilus Zeamais*.
10. Figueredo G. Étude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne. Thèse, 2007.
11. Gutierrez J., Barry-Ryan C., et Bourke P., 2009. Antimicrobial Activity of Plant Essential Oils Using Food Model Media : Efficacy, Synergistic Potential and Interactions with Food Components. *Food microbiology* 26(2) :142–50.
12. Handa S.S., Khanuja S.P.S., Longo G., Rakesh D.D., *Extraction technologies for aromatic and medicinal plants*. United Nations Industrial Development Organization and the International Centre for Science and High Technology (2008). 260p.
13. Hay Y.O.M. Thèse, 2015 : La complexité des simples - caractérisations chimique et biologique de combinaisons hydrolats-huiles essentielles et huiles essentielles-huiles essentielles pour l'objectivation d'effets conservateurs de produits phyto-thérapeutiques ; p 4, 103- 106.
14. Ilboudo Z., Dabiré L.C.B., Nébié R.C.H., Dicko I.O., Dugravot S., Cortesero A.M., Santon A., 2010. Biological activity and persistence of four essential oils towards the main pest of stored cowpeas, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*; 46 ; 124-128.
15. Kpadonou D., Alianto F., Kpadounou-Kpoviessi B., Agbani P., Gbaguidi F., Baba-Moussa L., Moudachirou M. et Kpoviessi S. : Relations entre composition chimique, activité antioxydante et toxicité des huiles essentielles de deux espèces de *Cymbopogon* acclimates au Bénin /*Int. J. Biol. Sci.* 13(2) : 1201-109,2019.
16. Kumar A, Malik F, Bhushan S, Sethi VK, Shahi AK, Kaur J, Taneja SC, Qazi GN, Singh J. An essential oil and its major constituent isointermedeol induce apoptosis by increased expression of mitochondrial cytochrome c and apical death receptors in human leukaemia HL-60 cells. *Chem Biol Interact* 2008 ; 171 : 332-47.
17. Likibi B. N., Tsiba G., Madiélé A. B., Nsikabaka S., Moutsamboté J.M. et Ouamba J. M., 2015. Constituants chimiques de l'huile essentielle de *Mentha piperata* L. (Lamiaceae) du Congo. *J. Appl. Biosci* 92 : 8578-8585.
18. Mohammad J.S., Marjan M., Kamiar Z., Keyvan P., Ramin M. and Kimia H., (2012). Chemical composition, antifungal and antibiofilm activity of the essential oil of *Mentha piperata* L. *International Scholarly Research Network Pharmaceutics*. P.1-6
19. Nébié R. H. C., Tientoré A. et Yaméogo R. T., 2009 : Etude de l'effet insecticide de mélanges d'huiles essentielles sur *Callosobruchus maculatus* F. prédateur du niébé. Vol. 3, n°1 et 2 ; Janvier-décembre 2009, *Science et technique, Sciences appliquées et Technologies*.
20. Ngom S., Diop M., Mbengue M., Faye F., Kornprobst J. M. et Ae Samb A. Composition chimique et propriétés antibactériennes des huiles essentielles d'*Ocimum basilicum* et d'*Hyptis suaveolens* (L.) Poit récoltés dans la région de Dakar au Sénégal. *Afrique SCIENCE* 10(4) (2014) 109 – 117.

Composition chimique et propriétés antifongiques de l'huile essentielle obtenue par co-distillation de *Cymbopogon citratus* et *Eucalyptus camaldulensis*

Bily Nebie¹, Constantin M. Dabire¹, Schemaeza Bonzi², Siaka Sosso¹, Roger C.H. Nebie³, Irénée Somda² et Pierre Duez⁴

¹ Laboratoire de Chimie et Energies Renouvelables, Université Nazi BONI

² Laboratoire de Phytopathologie, Université Nazi BONI

³ Centre National de Recherche en Sciences et Technologies, Institut de Recherche en Sciences Appliquées et Technologies

⁴ Service de Chimie Thérapeutiques et de Pharmacognosie, Faculté de Médecine et Pharmacie, Université de Mons, Belgique

Résumé : L'objectif de cette étude était d'étudier l'effet de la co-distillation des plantes *Cymbopogon citratus* et *Eucalyptus camaldulensis* sur la composition chimique de leurs huiles essentielles et leur activité antifongique sur *Phoma sorghina*, *Macrophomina phaseolina* et *Fusarium moniliforme*, trois champignons majeurs responsables de la destruction des céréales en conservation. Les huiles essentielles ont été obtenues par hydrodistillation des feuilles sèches de *C. citratus* et *E. camaldulensis*, séparément, puis du mélange de ces feuilles dans les proportions massiques 50/50. Elles ont ensuite été analysées par CPG/MS et leur activité antifongique a été évaluée par la mesure de la croissance mycélienne radiale sur milieu PDA successivement aux doses de 0,6 ; 0,2 ; et 0,05%. L'huile essentielle du mélange contenait majoritairement du 1,8-cinéole (38,52%), du citral (25,77%), de l' α -pinène (8,12%) et du β -myrcène (7,09%). Celle de *C. citratus* était dominée par le citral (74,32%) et le β -myrcène (13,66%) tandis que celle de l'*E. camaldulensis* contenait majoritairement le 1,8-cinéole (44,17%), l' α -pinène (14,70%) et l'*o*-cymène (14,11%). Les tests antifongiques ont révélé que les huiles essentielles de *C. citratus* et du mélange ont été les plus efficaces en inhibant totalement la croissance des trois champignons à la dose de 0,2%. Ces résultats montrent que la co-distillation a permis de renforcer l'efficacité antifongique de l'huile essentielle de *E. camaldulensis* et suggèrent que les huiles essentielles de *C. citratus* et du mélange *C. citratus*/*E. camaldulensis* seraient utilisables comme fongicides naturels.

Mots clés : Co-distillation, huile essentielle, composition chimique, activité antifongique.

Chemical composition and antifungal properties of essential oils obtained by co-distillation of *Cymbopogon citratus* and *Eucalyptus camaldulensis*

Abstract : The objective of this study was to investigate the effect of co-distillation of the plants *Cymbopogon citratus* and *Eucalyptus camaldulensis* on the chemical composition of their essential oils and their antifungal activity on *Phoma sorghina*, *Macrophomina phaseolina* and *Fusarium moniliforme*, three major fungi responsible for the destruction of cereals in storage. The essential oils were obtained by hydrodistillation of the dry leaves of *C. citratus* and *E. camaldulensis*, separately, then of the mixture of these leaves in the mass proportions 50/50. They were then analyzed by GC/MS and their antifungal activity was evaluated by measuring radial mycelial growth on PDA medium successively at doses of 0.6 ; 0.2 ; and 0.05%. The essential oil of the mixture mainly contained 1,8-cineole (38.52%), citral (25.77%), α -pinene (8.12%) and β -myrcene (7.09%). That of *C. citratus* was dominated by citral (74.32%) and β -myrcene (13.66%) while that of *E. camaldulensis* mainly contained 1,8-cineole (44.17%), α -pinene (14.70%) and *o*-cymene (14.11%). The antifungal tests revealed that the essential oils of *C. citratus* and of the mixture were the most effective in totally inhibiting the growth of the three fungi at the dose of 0.2%. These results show that the co-distillation made it possible to reinforce the antifungal efficacy of the essential oil of *E. camaldulensis* and suggest that the essential oils of *C. citratus* and the mixture of *C. citratus* / *E. camaldulensis* could be used as natural antifungals.

Keywords : Co-distillation, essential oil, chemical composition, antifungal activity

1. Introduction

Le Burkina Faso est un pays sahélien où le secteur agricole joue un rôle socio-économique très important. Il occupe plus de 86 % de la population, fournit environ 45 % des revenus des ménages agricoles, génère 30 % du produit intérieur brut (PIB) et 70 % des recettes d'exportations. Parmi les produits agricoles, les céréales constituent les principales productions végétales. Elles occupent à elles seules plus de 88 % des surfaces emblavées annuellement et constituent l'alimentation de base de la majorité de la population (Guèye et al., 2011). Cependant la conservation post récolte en zone sahélienne sèche qui est le seul moyen d'assurer le lien entre la récolte intervenant une fois dans l'année et la consommation qui est permanente et obligatoire demeure une préoccupation majeure (Waongo et al., 2013). En effet, des pratiques inadéquates, dès la récolte, et l'utilisation d'équipements inappropriés rendent les grains vulnérables aux moisissures et aux infestations de ravageurs le long de la chaîne

d'approvisionnement, et entraînent des pertes et une production de moindre qualité (FAO, PAM et FIDA, 2019). Ainsi, l'augmentation croissante des productions couplée à la sévérité des attaques d'insectes et des moisissures impose l'utilisation des produits chimiques de synthèse pour la protection des denrées stockées (Dabiré *et al.*, 2001). En effet, la lutte chimique a toujours été le principal moyen pour réduire les contaminations post-récoltes des denrées en conservation. Cependant, l'utilisation continue et à des doses élevées de ces produits chimiques de synthèse dans une perspective de contrôle post-récolte des denrées alimentaires augmente le risque de résidus toxiques dans les produits alimentaires (Hammer *et al.*, 1999) et le développement de résistances chez les insectes et les champignons dû à l'accoutumance (Benhalima *et al.*, 2004). Face à la sensibilité croissante des consommateurs à cette pollution résiduelle et des effets toxiques des fongicides de synthèse, l'importance de l'utilisation des produits alternatifs naturels est devenue une nécessité (Bankole, 2004). De plus les restrictions imposées par les organismes de réglementation aux industries alimentaires sur l'usage de certains additifs alimentaires synthétiques ont conduit à un regain d'intérêt dans la recherche d'alternatives, comme les composés naturels. Selon plusieurs auteurs, les huiles essentielles des plantes aromatiques pourraient constituer une alternative à l'usage des produits chimiques de synthèse. En effet, elles possèdent un large champ de propriétés biologiques telles que les propriétés antifongiques, insecticides, antimicrobiennes, etc. (Bassolé *et al.*, 2003). Elles sont biodégradables, moins toxiques pour l'homme et l'environnement et présentent un faible risque de développement de résistance par les microorganismes pathogènes (Tatsadjieu *et al.*, 2010 ; Kpatinvoh *et al.*, 2017). Toutefois, l'emploi des huiles essentielles sur le plan industriel demeure un challenge à relever car certaines contraintes limiteraient leur usage. Il s'agit entre autres de leur faible rendement d'extraction, de la très grande consommation en énergie liée à leur extraction ce qui se traduit par leurs coûts prohibitifs (Nébié *et al.*, 2009). Il y'a aussi la nécessité d'utiliser des faibles doses tout en maintenant leur efficacité afin de garantir la sécurité du produit et sa durée de vie utile tout en diminuant les aspects sensoriels de l'huile essentielle dans le produit fini (Gutierrez *et al.*, 2009). Ainsi, selon plusieurs auteurs, l'usage des combinaisons d'huiles essentielles pourrait permettre dans certains cas d'augmenter leur efficacité ce qui permettra d'utiliser des petites quantités (Nébié *et al.*, 2009 ; Gutierrez *et al.*, 2009 ; Hay *et al.*, 2015). Selon Hay (2015), la co-distillation (ou distillation simultanée) des huiles essentielles des plantes aromatiques serait aussi une piste à explorer car elle permet d'obtenir une diversité moléculaire qui serait très intéressante non seulement du point de vue des propriétés biologiques, mais aussi en termes de sécurité et de parfums des huiles essentielles obtenues. C'est dans ce contexte que s'inscrit ce travail qui a pour but de valoriser les huiles essentielles de *Cymbopogon citratus* et *Eucalyptus camaldulensis* potentiellement antifongiques à travers une co-distillation de ces deux plantes. En effet, les propriétés antifongiques de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* riche en citral ont été déjà prouvées sur plusieurs champignons tels que *Aspergillus flavus*, *Aspergillus tamarii*, *Fusarium moniliforme*, *Bipolaris oryzae* (Montel, 2005 ; Kpatinvoh *et al.*, 2017 ; Tiendrébéogo *et al.*, 2017). De même, l'huile essentielle d'*Eucalyptus camaldulensis* riche en 1,8-cinéole a également été prouvée comme possédant des propriétés antifongiques sur *Alternaria alternata* et *Penicillium expansum* (Hmiri *et al.*, 2011) et sur plusieurs autres espèces fongiques (Somda *et al.*, 2007). Cependant les huiles essentielles de ces deux plantes du Burkina Faso n'ont pas encore fait l'objet d'évaluation antifongique à notre connaissance sur *Phoma sorghina* et *Macrophomina phaseolina* deux champignons majeurs responsables de la destruction des denrées en stocks. De plus aucune étude sur la co-distillation des huiles essentielles de ces deux plantes du Burkina Faso n'a été faite. L'objectif donc de cette étude est d'étudier l'effet de la co-distillation de ces deux plantes sur la composition chimique de leurs huiles essentielles et leur activité antifongique sur *Phoma sorghina*, *Macrophomina phaseolina* et *Fusarium moniliforme*, trois champignons majeurs responsables de la destruction des céréales et du niébé en conservation.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel

2.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des feuilles sèches des plantes *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf et d'*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. Les plantes ont été récoltées en Aout 2019 au jardin du LACER situé à l'Université Nazi-Boni de Bobo-Dioulasso (Latitude : 11°12'N ; longitude : 4°24'W). Elles ont été séchées à l'abris de la lumière pendant sept jours à la température ambiante avant d'être utilisées pour l'extraction des huiles essentielles.

2.1.2. Matériel biologique

Trois espèces fongiques constituées de *Fusarium moniliforme* Sheld, *Phoma sorghina* (Sacc.) Boerema Dorenbosch et Van Kest. et *Macrophomina phaseolina* (Tassi) ont été testées dans cette étude. Ces moisissures ont été isolées par la méthode de la chambre humide respectivement du sorgho (*Sorghum bicolor* L.), du niébé (*Vigna unguiculata* L. et du maïs (*Zea mays* L.), achetés dans les marchés de la ville de Bobo-Dioulasso. Les moisissures ont été identifiées ensuite en se basant sur leurs caractères morphologiques et microscopiques décrits par Mathur et Kongsdal, (2003). Elles ont été régulièrement entretenues par repiquage sur du milieu PDA jusqu'à utilisation.

2.2. Méthodes

2.2.1. Extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles (HE) ont été obtenues par hydrodistillation avec un appareil de type Clevenger à partir des feuilles sèches de *Cymbopogon Citratus* et d'*Eucalyptus camaldulensis*, séparément, puis à partir de leur mélange dans les proportions massiques 50/50. Les huiles essentielles obtenues ont été déshydratées au sulfate de sodium anhydre (Na₂SO₄) puis conservées à 4 °C jusqu'à utilisation. Le rendement d'extraction des huiles essentielles (R) a été déterminé selon la formule suivante : $R (\%) = (M_{HE} / M_{MV}) \times 100$ où M_{HE} est la masse d'huile essentielle obtenue et M_{MV} représente la masse de matière végétale sèche utilisée (Likibi *et al.*, 2015).

2.2.2. Détermination de la composition chimique des huiles essentielles

2.2.2.1. Analyse chimique

Les huiles essentielles ont été analysées par chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse. Un chromatographe de type Hewlett Packard (série HP 6890), équipé d'une colonne capillaire HP-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm épaisseur de film), d'un détecteur FID réglé à 250°C et alimenté par un mélange de gaz H₂/air a été utilisé. Le mode d'injection est split. Le gaz vecteur utilisé est l'azote avec un débit de 1,7 ml/min. La température de la colonne est programmée à raison d'une montée de 4 °C/min de 50°C à 250 °C pendant 5 min. L'appareil est piloté par un système informatique de type « HP Chemstation » gérant le fonctionnement de l'appareil et permettant de suivre l'évolution des analyses chromatographiques. Le couplage CG-SM a été réalisée sur un chromatographe Hewlett Packard (HP 6890) couplé à un spectromètre de masse (série HP 5973). La fragmentation est effectuée par impact électronique à 70 eV. La colonne utilisée est un capillaire de type HP-5SM (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). La température de la colonne est programmée à raison d'une montée de 4 °C/min de 50 à 250 °C pendant 5 min. Le gaz vecteur utilisé est l'hélium dont le débit est fixé à 1,7 ml/min. Le mode d'injection est split.

2.2.2.2. Identification des constituants des huiles essentielles

L'identification des différents constituants des huiles essentielles a été effectuée d'une part, à l'aide d'un système de traitement de données qui permet de comparer les spectres de masse des différents constituants avec ceux existant dans une banque de données (NIST, 2002) et d'autre part, par comparaison de leur indice de rétention (RI) à ceux de la littérature (Babushok *et al.*, 2011).

2.2.3. Test antifongique des huiles essentielles

La méthode de contact direct a été appliquée pour tester la sensibilité des moisissures vis-à-vis des huiles essentielles. Les doses 0,05 ; 0,2 ; 0,6 % ont été préparées dans du milieu PDA (Potato Dextrose Agar) puis testées. La technique a consisté à additionner un certain volume d'huile essentielle au milieu de culture PDA stérilisé à 120°C pendant 30 min (4,9 g de PDA dans 100ml d'eau distillées) et encore liquide à la température de 45 °C de sorte à obtenir la dose souhaitée. Le milieu de culture à l'huile essentielle est reparti en raison de 25 ml par boîte de Pétri. En parallèle des témoins composés de milieux de culture PDA sans huile essentielle ont servi de contrôle. Après solidification du milieu de culture, pour chaque moisissure, un disque mycélien de 5 mm de diamètre est déposé aseptiquement à la surface du milieu de culture au centre de la boîte de Pétri de 9 cm de diamètre en verre. Les boîtes de Pétri ainsi inoculées sont ensuite bien scellées à l'aide du papier parafilm et sont déposées dans une chambre d'incubation à 22 ± 2 °C sous 12 h de lumière proche UV alternée avec 12 h d'obscurité pendant 7 jours (Mathur et Kongsgal, 2003). La mesure de la croissance mycélienne a été faite au 4^e et 7^e jours après l'incubation. Pour cela, deux droites perpendiculaires ont été tracées sur le couvercle des boîtes de Pétri. Le point d'intersection de ces droites doit correspondre au centre de l'explant déposé sur le milieu de culture. Pour chaque mesure de diamètre, une moyenne des différentes mesures faites sur les deux axes est considérée. Le pourcentage d'inhibition (I) de la croissance mycélienne est calculé selon la formule suivante : $I (\%) = (1 - D / D_t) \times 100$ (Kumar *et al.*, 2007).

D: diamètre moyen de la croissance mycélienne dans le milieu de culture avec l'huile essentielle ; D_t: diamètre moyen de la croissance mycélienne dans le milieu de culture sans huile essentielle.

N.B. : Pour chaque isolat fongique testé, 4 répétitions par dose ont été effectuées.

3. Résultats et discussion

3.1. Rendement d'extraction des huiles essentielles

Les rendements d'extraction des huiles essentielles ainsi que leurs couleurs sont présentés dans le **tableau 1**.

Tableau 1 : Rendements et couleurs des huiles essentielles obtenues

Huile essentielle	Rendement (%)	Couleur	Rendement (littérature)
<i>C. citratus</i>	1,11	Jaune	0,3% (Bayala, 2014) ; 1,4% (Djibo, 2000) ; 1,1% (Degnon <i>et al.</i> , 2016)
<i>E. camaldulensis</i>	0,97	Jaune-clair	1,40 % (Hmiri <i>et al.</i> , 2011)
Mélange <i>C. citratus</i> / <i>E. camaldulensis</i>	0,99	Jaune-clair	-

Les différences de rendements des huiles essentielles obtenues de ceux de la littérature s'expliqueraient par la nature du sol, le climat, la période de récolte.

3.2. Composition chimique des huiles essentielles

Les analyses chromatographiques des huiles essentielles ont permis d'identifier les constituants mentionnés dans le **tableau 2**.

Tableau 2 : Constituants des huiles essentielles de *C. citratus*, *E. camaldulensis* et de leur mélange obtenu par co-distillation

RI	Nom	<i>C. citratus</i> (CC)	<i>E. camaldulensis</i> (EC)	CC / EC
921,5	3-méthylbutanal	-	1,61	2,27
1025,4	α -pinène	-	14,70	8,12
1068,5	camphène	-	0,13	-
1115,6	β -pinène	-	0,14	-
1164,7	β -myrcène	13,66	0,26	7,09
1170,3	α -phellandrène	-	5,91	2,56
1205,9	limonène	-	3,85	7,42
1220,2	eucalyptol	-	44,17	38,52
1236,1	cis- β -ocimène	0,36	-	-
1250,2	γ -terpinène	-	3,83	1,95
1253,1	trans- β -ocimène	0,25	-	-
1274,1	<i>p</i> -cymène	-	-	0,92
1275,5	<i>o</i> -cymène	-	14,11	-
1287,9	terpinolène	-	0,30	0,41
1299,2	isopentyl isovalerate	-	0,32	-
1340,3	6-méthylhept-5-èn-2-one,	1,14	-	0,32
1481,4	citronellal	0,17	-	-
1550,9	linalool	1,14	0,15	0,60
1573,0	pinocarvone	-	0,17	-
1588,4	endo-fenchol	-	0,20	-
1601,3	2-undecanone	0,39	-	-
1607,2	terpinèn-4-ol	-	1,41	0,50
1611,2	aromandendrene	-	0,21	-
1661,2	trans-pinocarvéol	-	0,96	-
1683,0	carvotanacetone	-	0,24	-
1688,0	néral	32,83	-	11,49
1691,5	cis-carvéol	-	0,25	-
1691,5	trans-carvéol	-	-	0,22
1698,5	viridiflorène	-	0,23	-
1701,9	α -terpinéol	-	1,84	1,09
1707,2	endo-bornéol	-	0,33	-
1731,1	pipéritone	-	0,41	-
1737,1	bicyclogermacrène	-	0,73	-
1738,2	géraniol	41,49	-	14,28
1759,7	acetate de géranyle	0,49	-	-
1771,3	citronellol	0,31	-	-
	trans- <i>p</i> -mentha-1(7),8-dien-2-	-	-	-
1802,7	ol	-	0,17	-
1805,4	nérol	0,21	-	-
1811,8	2-tridecanone	0,23	-	-
1811,9	cis-sabinol	-	0,23	-
1853,1	géraniol	3,49	-	1,12
1893,1	cis- <i>p</i> -mentha-1(7),8-dien-2-ol	-	0,14	-

L'analyse du **tableau 2** montre que l'huile essentielle de *C. citratus* contenait majoritairement le géraniol (41,49 %), le néral (32,83 %), le β -myrcène (13,66 %), et le géraniol (3,49%). Cette composition semblable à celle obtenue par Djibo (2000) dont les constituants principaux sont le géraniol (44,6 %), le néral (33 %) et le myrcène (10,7 %). Bayala et al., (2014) ont obtenu comme constituants majoritaires de l'huile essentielle de cette plante le géraniol (48,18 %), le néral (34,37 %), le myrcène (5,37 %) et le géraniol (3,27 %). Celle d'*E. camaldulensis* contenait majoritairement l'eucalyptol (44,17 %), l' α -pinène (14,70 %), l'*o*-cymène (14,11 %), l' α -phellandrène (5,91 %), le limonène (3,85 %) et le γ -terpinène (3,83 %). La présence de l'*o*-cymène et à une forte teneur (14,11 %) en lieu et place du *p*-cymène dans l'huile essentielle d'*E. camaldulensis* de notre étude la rend différente de celles rencontrées dans la littérature. En effet, dans l'huile essentielle de la même espèce du Maroc, il a été identifié

comme constituants majoritaires l'eucalyptol (42,30 %), l' α -pinène (28,30 %), γ -terpinène (7,30 %) et le *p*-cymène (4,73 %) (Hmiri et al., 2011). De celle du Burkina Faso, Bayala et al., (2014) ont identifiés l'eucalyptol (59,55 %), l' α -pinène (9,17 %), le limonène (8,76 %) et le *p*-cymène (4,73 %) comme constituants majoritaires. L'huile essentielle d'*E. camaldulensis* du Cameroun est riche en eucalyptol (54,29 %), en *p*-cymène (14,59 %), en γ -terpinène (14,80 %) et en α -pinène (12,13 %) (Dongmo et al., 2008). Celles de Taïwan présentent deux chémotypes dont le premier est dominé par le 1,8-cinéole (29,6 %) (Su et al., 2006) alors que le deuxième est dominé à la fois par l' α -pinène (22,52 %), le *p*-cymène (21,69 %) et l' α -phellandrène (20,08 %) (Cheng et al., 2009). Quant à l'huile essentielle du mélange obtenu par co-distillation, elle contenait majoritairement non seulement tous les constituants majoritaires identifiés dans l'huile essentielle de *C. citratus* [le néral (11,49 %), le géraniol (14,28 %) et le β -myrcène (7,09 %)] mais aussi ceux identifiés dans l'huile essentielle d'*E. camaldulensis* [l' α -pinène (8,12 %) et l'eucalyptol (38,52 %)] excepté l'*o*-cymène. Cependant, ces constituants ont été identifiés à des teneurs relativement faibles par rapport à celles des huiles essentielles des deux plantes prises séparément. Un effet de dilution pourrait expliquer cela. Ce constat a également été fait par Hay (2015) sur la composition chimique du mélange de l'huile essentielle obtenu par co-distillation des plantes Thym et Romarin.

3.3. Propriétés antifongiques des huiles essentielles

Les résultats des tests antifongiques ont montré que toutes essentielles avaient une action inhibitrice sur la croissance mycélienne des trois champignons à savoir *Fusarium moniliforme*, *Phoma sorghina* et *Macrophomina phaseolina* (tableau 3). Toutefois, cette inhibition variait en fonction des huiles essentielles, des espèces fongiques et des doses testées. Ainsi, les huiles essentielles du mélange et de *C. citratus* ont inhibé totalement la croissance mycélienne des trois espèces fongiques aux doses 0,2 ; 0,6 %. Cependant, celle de l'*E. camaldulensis* a présenté la plus faible activité antifongique avec des taux d'inhibition de 56,87 ; 37,22 et 63,61% respectivement sur *Phoma sorghina*, *Macrophomina phaseolina* et *Fusarium moniliforme* à plus la forte dose testée (0,6 %) au septième jour après incubation. Nos résultats corroborent d'autres travaux sur le pouvoir antifongique des huiles essentielles de *C. citratus* et d'*E. camaldulensis*. En effet, Kpatinvoh et al., (2017) ont montré que les huiles essentielles de *C. citratus* à 0,05 μ l/ml et d'*E. saligna* à 15 μ l/ml inhibaient totalement *Aspergillus flavus* et *Aspergillus tamarii*, deux champignons responsables de la destruction du niébé au Bénin. De même, Montel (2005) a montré que l'huile essentielle de *C. citratus* à la dose de 1% réduisait totalement la croissance mycélienne de *Bipolaris oryzae* et que celle de *Lipia multiflora* inhibait à la dose de 1,5 % complètement la croissance de *Fusarium moniliforme*. L'équipe de Tiendrébéogo (2017) a montré que l'huile essentielle *C. citratus* empêchait le développement de *Fusarium moniliforme* à 600 ppm. Hmiri et al. (2011) à travers les travaux réalisés sur les huiles essentielles d'*E. camaldulensis* et *M. pulegium* du Maroc ont montré que l'huile essentielle de l'*E. camaldulensis* était trois fois moins efficace que celle de *M. pulegium* sur deux champignons responsables de la pourriture de la pomme (*Alternaria alternata* et *Penicillium expansum*). En effet, à partir 10 μ l, l'huile de *M. pulegium* a inhibé totalement la croissance mycélienne de ces deux champignons tandis qu'il fallait 30 μ l à l'huile essentielle de l'*E. camaldulensis* pour obtenir le même résultat. La différence d'efficacité de ces huiles essentielles pourrait être liée à leur composition chimique. En effet, l'huile essentielle de *C. citratus* est dominée par le citral (74,32 %) qui est une cétone alors que celle de l'eucalyptus est constitué principalement du 1,8-cinéole (44,17 %) qui est un oxyde terpénique. Des travaux antérieurs ont montré que les cétones sont plus actives contre les agents microbiens que les oxydes terpéniques (El Arch et al., 2003 ; Satrani et al., 2010). En outre, l'activité des huiles essentielles ne serait pas liée seulement qu'à leurs composés majoritaires mais serait aussi liée à un effet de synergie entre les composés majoritaires et ceux minoritaires (Soumanou et Adjou 2016). A la plus faible dose (0,05 %), seules les huiles essentielles du mélange et de *C. citratus* ont été testées. Il ressort que l'huile essentielle du mélange a été la plus efficace avec des taux d'inhibition de 44,55 % et 41,86 % respectivement sur *Phoma sorghina* et *Fusarium moniliforme* contre 40,90 % et 27,20 % pour l'huile essentielle de *C. citratus* sur les mêmes champignons, respectivement au septième jour après incubation (7JAI). Cependant sur *Macrophomina phaseolina*, aucune huile essentielle n'a été active à cette dose au 7JAI. L'efficacité de l'huile essentielle du mélange obtenue par co-distillation par rapport à celles des deux plantes obtenues séparément pourrait être due à un effet de synergie des constituants des huiles essentielles de ces deux plantes. En effet, selon plusieurs auteurs, les combinaisons des huiles essentielles ont permis d'obtenir une meilleure efficacité par rapport à celles des huiles essentielles des plantes prises séparément (Nébié et al., 2009 ; Gutierrez et al., 2009 ; Hay, 2015).

Tableau 3 : Résultats des tests antifongiques des huiles essentielles sur les trois souches fongiques

HE	Dose (%)	Pourcentage d'inhibition I (%)					
		<i>P. sorghina</i>		<i>M. phaseolina</i>		<i>F. moniliforme</i>	
		4JAI	7JAI	4JAI	7JAI	4JAI	7JAI
Mélange	0,6	100	100	100	100	100	100
<i>C. citratus</i>	0,6	100	100	100	100	100	100
<i>E. camaldulensis</i>	0,6	51,84±15,08	56,87±8,16	56,04±12,11	37,22±13,25	54,54±5,05	63,61±4,4
Mélange	0,2	100	100	100	100	100	100
<i>C. citratus</i>	0,2	100	100	100	100	100	100
<i>E. camaldulensis</i>	0,2	27,96±19,04	38,49±10,98	0	0	39,34±4,86	43,30±2,56
Mélange	0,05	59,97±4,74	44,55±1,74	22,36±5,40	0	59,63±9,38	41,86±9,83
<i>C. citratus</i>	0,05	48,67±13,84	40,90±2,4	39,52±6,62	0	35,79±2,28	27,20±4,96

- : dose non testée ; JAI : jour après incubation

4. Conclusion

L'huile essentielle obtenue par co-distillation des plantes *C. citratus* et *E. camaldulensis* contenait comme constituants majoritaires non seulement ceux identifiés dans l'huile essentielle de *C. citratus* mais aussi ceux de l'huile essentielle de l'*E. camaldulensis*. L'huile essentielle de *C. citratus* contenait majoritairement le citral (74,32 %) et le β -myrcène (13,66%) et celle de l'*E. camaldulensis* contenait majoritairement l'eucalyptol (44,17 %), l' α -pinène (14,70 %) et l'*o*-cymène (14,11 %). Les huiles essentielles du mélange et *C. citratus* ont inhibé totalement à la dose de 0,2 % la croissance mycélienne des trois espèces fongiques testées (*Phoma sorghina*, *Macrophomina phaseolina* et *Fusarium moniliforme*). Cependant, l'huile essentielle de l'*E. camaldulensis* s'est avérée la moins efficace avec des taux d'inhibition à la forte dose testée (0,6 %) qui variaient de 32,08 à 63,61 % au septième jour après incubation sur tous les trois champignons testés. A la plus faible dose (0,05 %) testée, l'huile essentielle du mélange a été la plus efficace avec des taux d'inhibition de 44,55 % et 41,86 % respectivement sur *Phoma sorghina* et *Fusarium moniliforme* contre 40,90 % et 27,20 % pour l'huile essentielle de *C. citratus* sur les mêmes champignons respectivement, au septième jour après incubation (7JAI). Cependant, sur *Macrophomina phaseolina*, toutes les huiles essentielles sont devenues inactives au 7JAI. Ces résultats montrent que la co-distillation a permis de renforcer l'efficacité antifongique des huiles essentielles de *C. citratus* et *E. camaldulensis* et suggèrent que l'huile essentielle du mélange *C. citratus* / *E. camaldulensis* serait un bon candidat dans la lutte antifongique.

Références bibliographiques

- Babushok V. I., Linstrom P. J., and Zenkevich I. G. : Retention Indices for Frequently Reported Compounds of Plant Essential Oils. *J. Phys. Chem. Ref. Data*, Vol. 40, No. 4, 2011.
- Bankole S., Mabekoje O., 2004. Mycoflora and occurrence of aflatoxin B1 in dried yam chips from markets in Ogun and Oyo States, Nigeria. *Mycopathologia*, 157 : 111-115.
- Bassolé I.H.N., Ouattara A.S., Nébié R. H. C., Ouattara A.C., Kaboré Z.I. et Traoré A.S., 2003. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Lippia multiflora* and *Lippia chevalieri* from Burkina Faso. *Phytochemistry*, (62) ; 209-212.
- Bayala B. Thèse (2014) : Etude des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, anti-prolifératives et anti-migratoires des huiles essentielles de quelques plantes médicinales du Burkina Faso sur les lignées cellulaires du cancer de la prostate et de glioblastomes.
- Benhalima H., Chaudhry M. Q., Mills K. A., Price N. R. 2004. Phosphine resistance in stored-product insects collected from various grain storage facilities in Morocco. *J. Stored Prod. Res.*, 40 : 241-249.
- Cheng S., Huang C., Chen Y., Yu J., Chen W., And Chang S., (2009). Chemical compositions and larvicidal activities of leaf essential oils from two eucalyptus species, *Bioresour. Technol.*, 100, 452-456.
- Dabiré C. Etude de quelques paramètres biologiques et écologiques de *Clavigrallatomenticolis* STAL., (Hemiptera:Coreidae) punaises suceuses des gousses du niébé (*Vigna unguiculata* L.) dans une perspective de lutte durable contre l'insecte au Burkina Faso. Thèse de Doctorat d'état (2001), Université de Cocody, Cocody, 179 p.
- Degnon G. R., Adjou E. S., Metome G. et Dahouenon-Ahoussi E. Efficacité des huiles essentielles de *Cymbopogon citratus* et de *Mentha piperita* dans la stabilisation du lait frais de vache au Sud du Bénin. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 10(4) : 1894-1902, 2016.
- Dongmo P. M. J., Ngoune L.T., Dongmo B. N., Kuate J., Zollo P. H. A., And Menut C., (2008), Antifungal potential of *Eucalyptus saligna* and *Eucalyptus camaldulensis* essential oils from Cameroon against *Phaeoramularia angolensis*, *European*

- Journal of Scientific Research*, **24**(3), 348-357. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, Vol. 80, 2011, p.824 – 836.
10. Djibo A. K., (2000) ; Thèse : Analyse des huiles essentielles de quelques plantes de la flore du Burkina Faso appartenant aux familles des Lamiacées (*Hyptis spicigera* Lam. ; *Hyptis suaveolens* Poit., *Ocimum americanum* L.) et des Poacées (*Cymbopogon schoenanthus* (L.) Spreng, *Cymbopogon giganteus* Chiov et *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf.
 11. El Arch M., Satrani B., Farah A, Bennani L., Boriky D., Fechtal M., Blaghen M Et Talbi M., (2003), Composition chimique et activité antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* du Maroc, *Acta Bot. Gallica*, **150** (3), 267-274.
 12. Fonds des Nations Unies pour l'investissement et le développement agricole (FIDA), Programme alimentaire mondial (PAM) et Organisation pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), 2019. Analyse des pertes alimentaires : causes et solutions. Études de cas sur le sorgho, le maïs, le niébé au Burkina Faso.
 13. Guèye M. T., Seck D., Wathelet J-P., Lognay G., 2011. Lutte contre les ravageurs des stocks de céréales et de légumineuses au Sénégal et en Afrique occidentale : synthèse bibliographique. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 15(1) : 183-194.
 14. Gutierrez J., Barry-Ryan C., et Bourke P., 2009. Antimicrobial Activity of Plant Essential Oils Using Food Model Media : Efficacy, Synergistic Potential and Interactions with Food Components. *Food microbiology* 26(2) :142–50.
 15. Hammer K. A, C. F. Carson and T. V. Riley. 1999. "Antimicrobial Activity of Essential Oils and Other Plant Extracts". *Journal of applied microbiology* 86(6) :985–90.
 16. Hay Y.O.M. Thèse, 2015 : La complexité des simples - caractérisations chimique et biologique de combinaisons hydrolats-huiles essentielles et huiles essentielles-huiles essentielles pour l'objectivation d'effets conservateurs de produits phytothérapeutiques ; p 4, 103- 106.
 17. Hmiri S., Rahouti M., Habib Z., Satrani B., Ghanmi M. et El Ajjouri M. Évaluation du potentiel antifongique des huiles essentielles de *Mentha pulegium* et d'*Eucalyptus camaldulensis* dans la lutte biologique contre les champignons responsables de la détérioration des pommes en conservation. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, Vol. 80, 2011, p.824 - 836*
 18. Kpatinvoh B., Adjou E. S., Dahouenon-Ahoussi E., Konfo T. R. C., Atrévi B, Soumanou M. M., Sohounhloue D. C. K., 2017. Efficacité des huiles essentielles de trois plantes aromatiques contre la mycoflore d'altération du niébé (*Vigna unguiculata* L., Walp) collecté dans les magasins de vente du Sud-Bénin. *Journal of Applied Biosciences* 109 : 10680-10687.
 19. Kumar A, Malik F, Bhushan S, Sethi VK, Shahi AK, Kaur J, Taneja SC, Qazi GN, Singh J. An essential oil and its major constituent isointermedeol induce apoptosis by increased expression of mitochondrial cytochrome c and apical death receptors in human leukaemia HL-60 cells. *Chem Biol Interact* 2008 ; 171 : 332-47.
 20. Likibi B. N., Tsiba G., Madiélé A. B., Nsikabaka S., Moutsamboté J.M. et Ouamba J. M., 2015. Constituants chimiques de l'huile essentielle de *Mentha piperata* L. (Lamiaceae) du Congo. *J. Appl. Biosci* 92 : 8578-8585.
 21. Mathur S. B., Kongsdal O. 2003. *Commun Laboratory Seed Health Testing Methods for DETECTING FUNGI*. (1^{er} edn) Kandrups Bogtrkkreeri Publication : Denmart ; 425.
 22. Montel S., 2005. Evaluation de l'effet de quelques substances naturelles face aux champignons phytopathogènes les courants du riz. Rapport de stage BTS en productions végétales. INERA, Station de Farako-bâ, Bobo-Dioulasso, Burkina.
 23. Nébié R. H. C., Tientoré A. et Yaméogo R. T., 2009 : Etude de l'effet insecticide de mélanges d'huiles essentielles sur *Callosobruchus maculatus* F. prédateur du niébé. *Vol. 3, n°1 et 2 ; Janvier-décembre 2009, Science et technique, Sciences appliquées et Technologies*.
 24. Satrani B., (2010), Valorisation des plantes aromatiques et médicinales du Maroc. Éditions Universitaires Européennes, ISBN : 978-613-1-51855-3, 153P.
 25. Somda I., Leth V., And Sérémé P., (2007), Antifungal effect of *Cymbopogon citratus*, *Eucalyptus camaldulensis* and *Azadirachta indica* oil extracts on sorghum seed-borne fungi, *Asian Journal of Plant Sciences*, **6** (8), 1182-1189.
 26. Soumanou M. M., Adjou E. S., 2016. Sweet Fern (*Ocimum grantissimum*) Oils. In : Preedy, V. R. (Ed.), *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*. Academic press, 765-773.
 27. Su Y., Ho C., Wang E. I., and Chang S., (2006), Antifungal activity and chemical compositions of essential oils from leaves of four *Eucalyptus*, *Taiwan J. For. Sci.*, **21**(1), 49-61.
 28. Tatsadjieu N., Jazet M., Ngassoum M.B., Etoa X., Mbofung M.F., 2010. Investigations on the essential oil of *Lippia rugosa* from Cameroon for its potential use as antifungal agent against *Aspergillus flavus* Link ex. Fries. *Food Control*, 5 :161–166.
 29. Tiendrébogo A., Ouedraogo I., Bonzi S., Kassankogno A. I. Etude de l'activité antifongique d'extraits de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stap, *Eclipta alba* L., *Lippia multiflora* M. et *Agave sisalana* P. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 11(3) : 1202-1211, June 2017. DOI : <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v11i3.22>.
 30. Waongo A., Yamkoulga M., Dabire-Binso C. L., Ba M. N. et Sanon A. 2013. Conservation post-récolte des céréales en zone sud-soudanaïenne du Burkina Faso : Perception paysanne et évaluation des stocks. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 7(3): 1157-1167, June 2013.

Activité antidiabétique et identification de flavonoïdes des extraits de *Euphorbia hirta* L.

Karanga Yssouf ^{A,B,C*}, Nikiema Wende-Konté Hazael Conania ^A, Ganame Têeda Hamidou ^A, Ilboudo Ousmane ^A, Tapsoba Issa ^A, Gerbaux Pascal^c Et Bonzi-Coulibaly Yvonne L^a

^aLaboratoire de Chimie Analytique Environnementale et Bio-Organique (LCAEBiO), Université Joseph KI-ZERBO, Ouagadougou 03 BP 7021, Burkina Faso.

^bLaboratoire de Chimie des Matériaux et de l'Environnement (LCME), Université Norbert ZONGO, Koudougou BP 376, Burkina Faso.

^cService de Synthèse et Spectrométrie de Masse Organiques, Université de Mons, UMONS, 23 Place du Parc, B-7000 Mons, Belgium

Résumé

Euphorbia hirta L. (*E. hirta*), est une herbacée utilisée dans la médecine traditionnelle pour le traitement de plusieurs maladies. Dans ce présent travail, différents extraits de *E. hirta* L. ont été préparés et investigués sur leurs propriétés antidiabétiques et anti-radicalaires suivant le model in vitro et identifier leur composition en flavonoïdes par la méthode LC-MS/MS. Les résultats obtenus ont révélé que les fractions acétate d'éthyle et butanol possèdent les meilleures activités antidiabétiques avec un IC₅₀ de 1,295 µg/mL et 2,188 µg/mL respectivement, la référence acarbose ayant un IC₅₀ de 214,825 µg/mL. Pour l'activité anti-radicalaire, la fraction acétate d'éthyle a montré une activité (IC₅₀=3,923 µg/mL) comparable à celle de la référence trolox (IC₅₀=3,807 µg/mL). L'analyse LC-MS/MS de cette fraction a permis de mettre en évidence la présence de 14 flavonoïdes parmi lesquels la myricétine-3-O-glucoside, myricétine-7-O-glucoside, kaempferol-3-O-glucoside, vitexine et isovitexine sont identifiés pour la première fois dans des extraits de *E. hirta*. Ces résultats montrent que la fraction acétate de *E. hirta* possède un effet antidiabétique et anti-radicalaire intéressant et pourrait être utilisée dans le traitement contre le diabète. Dans la suite de notre travail nous comptons réaliser des tests in vivo et isoler les molécules responsables des activités.

Mots clés : *Euphorbia hirta* L., alpha-glucosidase, diabète, flavonoïde

Abstract

Euphorbia hirta L. (*E. hirta*), is an herb used in traditional medicine for the treatment of several diseases. In the present work, different extracts of *E. hirta* L. were prepared and investigated for their anti-diabetic and anti-radical properties following the in vitro model and identify their flavonoid composition by LC-MS/MS method. The results obtained revealed that the ethyl acetate and butanol fractions have the best anti-diabetic activities with an IC₅₀ of 1.295 µg/mL and 2.188 µg/mL respectively, the reference acarbose having an IC₅₀ of 214.825 µg/mL. For free radical scavenging activity, the ethyl acetate moiety showed activity (IC₅₀=3.923 µg/mL) comparable to the trolox reference (IC₅₀=3.807 µg/mL). The LC-MS/MS analysis of this fraction revealed the presence of 14 flavonoids among which myricetin-3-O-glucoside, myricetin-7-O-glucoside, kaempferol-3-O-glucoside, vitexin and isovitexin are identified for the first time in extracts from *E. hirta*. These results show that the acetate fraction of *E. hirta* has an interesting anti-diabetic and anti-free radical effect and could be used in the treatment of diabetes. In the next stage of our work, we intend to perform in vivo tests and to isolate the molecules responsible for the activities.

Keywords: *Euphorbia hirta* L., alpha-glucosidase, diabetes, flavonoid

1. Introduction

Le diabète est l'une des plus anciennes maladies connues de l'humanité dont l'effet dévastateur augmente de jour en jour et gravement à un niveau épidémique [1]. C'est une maladie du métabolisme désordonné des glucides, qui affecte également les protéines et les graisses qui sont causées par l'insuffisance totale ou relative de l'action de l'insuline [2]. Plusieurs données expliquent que les principaux facteurs de risques responsables de la propagation du diabète sucré, sont l'urbanisation, le changement de mode de vie, l'inactivité physique, l'obésité, et le stress psychosociologique qui menace les individus jour après jour [3]. Le diabète connaît une expansion très significative, selon les estimations de l'OMS et de l'IDF (2016), 422 millions de personnes dans le monde sont atteint du diabète, ce chiffre atteindrait 552 millions d'ici 2030, soit une personne sur dix et la moitié des personnes atteintes de diabète ne sont pas diagnostiquées. Actuellement, Il y a plus de 199 millions de femmes diabétiques dans le monde soit 47% et ce total devrait augmenter à 313 millions. Le diabète se caractérise aussi par la gravité des complications qu'il engendre. En effet, il est la première cause d'insuffisance rénale terminale, de cécité et d'amputation des membres inférieurs, il est aussi la sixième cause de mortalité.

En Afrique subsaharienne, la prévalence se situe entre 0,2 et 12 % [4] et au Burkina Faso, en 2013 elle était de 4,9 % au sein de la population dont l'âge compris entre 25 et 65 ans [5]. Malgré l'utilisation des hypoglycémisants comme drogues antidiabétiques, le diabète et ses complications constituent une grande problématique dans la prise en charge thérapeutique des diabétiques et la réussite du traitement serait d'un intérêt grandiose, malgré l'avancée de nouvelles molécules thérapeutiques. Les médicaments modernes, y compris l'insuline et les hypoglycémisants oraux, leur administration régulière engendre d'effets indésirables [6, 7]. Récemment, les diabétologues sont arrivés à l'évidence d'un complément thérapeutique constitué par les extraits de plantes est nécessaire pour optimiser le traitement du diabète [8, 9].

Dans ce sens, l'utilisation de plantes médicinales pourrait contribuer à une meilleure prise en charge des personnes atteintes de diabète. *E. hirta* L. est une herbacée riche en composés phénoliques [5] Des études ont révélées que la présence de ce groupe de composés bioactifs pourrait inhiber l'enzyme alpha glucosidase qui est responsable de l'hydrolyse des hydrates de carbones [10, 11] et donc permettrait de réduire l'hyperglycémie postprandiale.

Le présent travail s'intéresse à l'évaluation de l'activité anti-radicalaire et antidiabétique de ce végétal par la réalisation des tests in-vitro et à l'identification des molécules bioactives

2. Matériels et méthodes

2.1. Matériel végétal

Les tiges feuillées de *E. hirta* L ont été récoltées dans le mois de février à Ouagadougou, plus précisément dans le quartier Ouaga 2000. Elles ont été identifiées par le Professeur Amadé OUEDRAOGO, botaniste au Laboratoire de Biologie et d'Ecologie Végétale (La.B.E.V) de l'Université Joseph KI-ZERBO.

2.2. Extraction

Les tiges feuillées de *E. hirta* L sont récoltées et lavées séparément et soigneusement à l'eau de robinet. Elles sont ensuite séchées à la température ambiante du laboratoire pendant une semaine et sont broyées dans un mortier en aluminium. La poudre obtenue est conservée pour la suite des travaux. L'extraction a été faite selon un protocole décrit au laboratoire [12] avec quelques modifications.

2.3. Dosage des composés phénoliques totaux

La teneur en composés phénoliques totaux des fractions a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu. A 60 µL de chacune des solutions à différentes concentrations sont ajoutés 60 µL de RFC et 120 µL de Na₂CO₃ 7,5% (m/v) ajoutés 8 min après. Les absorbances sont lues à 760 nm avec un lecteur multi puits 30 min plus tard après incubation. Les teneurs en composés phénoliques sont déterminées en rapportant les absorbances lues sur la courbe d'étalonnage de l'acide gallique préalablement établie. Elles sont exprimées en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg d'extrait).

2.4. Dosage des flavonoïdes totaux

Pour déterminer la teneur en flavonoïdes totaux, 50 µL d'échantillon à différentes concentrations sont ajoutés 150 µL d'eau distillée suivi de 15 µL de NaNO₂ à 5% (m/v). 5 min après, 15 µL de AlCl₃ 10% (m/v) y sont ajoutés puis l'ensemble est incubé à la température ambiante pendant 6 min. les lectures des absorbances à 510 nm sont faites après l'ajout de 50 µL de NaOH 1 N. Une courbe d'étalonnage de la quercétine a été établie et a permis de déduire les teneurs en flavonoïdes, exprimées en microgramme équivalent de quercétine par milligramme d'extrait.

2.5. Méthode DPPH

Le test DPPH permet de mesurer le pouvoir anti radicalaire de molécules pures ou d'extraits végétaux. La méthode DPPH a été réalisée comme suit. 50 µL de l'extrait est mélangé à 200 µL de solution méthanolique fraîchement préparée de DPPH. Après 10 min d'incubation, la lecture des absorbances est faite à 515 nm avec un spectrophotomètre.

2.6. Inhibition de l'α-glucosidase

L'activité inhibitrice de l'enzyme α-glucosidase des extraits a été évaluée selon la méthode rapportée par Ranilla et al. [13] avec de légères modifications. Ainsi, un mélange contenant 20 µL de l'enzyme α-glucosidase (1 unité/mL) et 120 µL de tampon phosphate 0,1 M à pH 6,9 on y introduit successivement 10 µL de chaque extrait ou fraction de plantes de façon à obtenir différentes concentrations. Chaque solution obtenue est pré-incubée dans des microplaques de 96 puits à 37°C pendant 15 minutes. Après

incubation, la réaction enzymatique est initiée en y ajoutant 20 µL de solution de 5 mM p-nitrophényl- α -D-glucopyranoside dans un tampon phosphate 0,1 M (pH 6,9) et le mélange réactionnel est incubé pendant 15 minutes supplémentaires à 37°C. La réaction est arrêtée par l'ajout de 80 µL de solution de carbonate de sodium 0,2 M. La lecture de l'absorbance est faite à une longueur d'onde à 405 nm par un spectrophotomètre de type SPECTROstar. Le système réactionnel sans extraits de plantes est utilisé comme contrôle et le système sans l'enzyme α -glucosidase est utilisé comme blanc pour corriger l'absorbance de fond. L'acarbose est utilisé comme témoin positif.

Le taux d'inhibition de l'enzyme α -glucosidase est calculé par la formule suivante :

$$\text{Taux d'inhibition}(\%) = \frac{Ac - As}{Ac} \times 100$$

Avec :

AC : Absorbance du contrôle

AS : Absorbance de l'extrait dans le système réactionnel

2.7. Analyse par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC/MS)

La séparation des flavonoïdes de l'extrait de *E. hirta* a été réalisée sur un appareil de chromatographie liquide Waters Alliance 2695. Le dispositif LC était couplé à un spectromètre de masse Waters QTOF Premier ou Waters Synapt G2-Si (mode ESI⁺ et ESI⁻) et comprenait un dégazeur à vide, une pompe quaternaire et un échantillonneur automatique. Un volume d'échantillon de 20 µl et 2 µl a été injecté respectivement pour l'analyse du QTOF Premier et du Synapt G2-Si. La séparation chromatographique a été effectuée sur une colonne non polaire (phenomenex C18, 150×2.1 mm, colonne de 5 µm, kinetex) à 30°C. La phase mobile (300 µL.min⁻¹) était un gradient non linéaire programmé à partir d'eau acidifiée (0,1% HCOOH) (éluant A) et de l'acétonitrile CH₃CN (éluant B). Le gradient a été programmé comme suit : 0 min, 0% B ; 20 min, 20% B ; 30 min, 30% B ; 35 min, 40% B ; 40 min, 0% B, et enfin, les conditions initiales ont été maintenues pendant 5 min comme étape de rééquilibrage. Le débit de la phase mobile (300 µL.min⁻¹) a été divisé avant l'injection dans la source d'ionisation Electrospray (5 µL.min⁻¹). Pour les expériences de mobilité ionique, le spectromètre de masse Waters Synapt G2-Si a été utilisé avec une vitesse d'onde de 1000 m/s et une hauteur d'onde de 40 V. Les données ont été traitées avec le logiciel Mass Lynx version 4.1 (Micromass, Manchester, UK) et DriftScope V2.8.

Les paramètres d'analyse ont été réglés en mode ion positif et négatif, avec des spectres acquis sur une gamme de masse allant de m/z 100 à 1000. Les valeurs optimales des paramètres ESI-MS étaient les suivantes : tension capillaire, 3,1 kV ; tension du cône, 20 V ; température de la source, 100°C ; température de désolvatation, 300°C. De l'azote sec a été utilisé comme gaz ESI.

L'identification des dérivés flavonoïdes dans l'extrait de *E. hirta* était basée sur la comparaison de leurs temps de rétention avec ceux des standards correspondants et des fragmentations MSMS.

3. Résultats

3.1. Teneurs en composés phénoliques

Les teneurs en composés phénoliques totaux (TCP) et en flavonoïdes totaux (TFT) des plantes étudiées sont présentées respectivement dans le tableau ci-dessous.

Tableau 1: Teneurs en composés phénoliques totaux (TCP), en flavonoïdes totaux (TFT) de *E. hirta*.

Fractions	DCM	AcOEt	BuOH	H ₂ O
TCP(µgEAG/mg)	142,312 ± 2,214	432,687 ± 1, 832	332,433 ± 1,255	54,137 ± 0,724
TFT (µg EQ/mg)	144,729 ± 3,043	417,850 ± 15,941	227,640 ± 2,657	69,182 ± 4,356

Les résultats obtenus montrent que les fractions AcOEt et BuOH renferment les teneurs en composés phénoliques les plus élevées respectivement 432,687 et 332,433 µg EAG/mg. Elles renferment par ailleurs de fortes teneurs en flavonoïdes totaux 417,850 µg EQ/ mg et 227,640 µg EQ/mg pour AcOEt et BuOH respectivement. Les plus faibles teneurs en TCP et TFT sont obtenus par la fraction DCM et la fraction aqueuse résiduelle.

3.2. Activité anti radicalaire

Nous avons utilisé le DPPH pour mesurer les propriétés anti-radicalaires des différentes fractions et déterminer l'IC₅₀. L'IC₅₀ se définit comme étant la concentration de l'extrait qui permet de réduire 50% des radicaux libres. Les différentes valeurs des IC₅₀ sont consignées dans le **tableau 2**.

Tableau 2: Activités anti-radicalaires du standard Trolox et des fractions de E. hirta.

Fractions	<i>E. hirta</i>				Trolox
	DCM	AcOEt	BuOH	H ₂ O	
IC ₅₀ (µg/mL)	22,828 ± 0,415	3,923 ± 0.013	7,476 ± 0,069	27,592 ± 0,277	3,807 ± 0,039

Au regard de ces résultats, la fraction AcOEt se révèle être la plus active avec la plus faible valeur de l'IC₅₀ (IC₅₀ = 3,923 ± 0.013 µg/mL) et dont cette valeur est comparable à celle du standard trolox (IC₅₀ = 3,807 ± 0,039 µg/mL). Ces résultats sont en accord avec ceux de karanga et *al.* 2017 [12] qui montrent que les fractions riches en composés phénoliques sont celles qui présentent les meilleures activités antioxydantes, et par conséquent les meilleures activités anti-radicalaires.

3.3. Activité antidiabétique

Les tests antidiabétiques ont été réalisés sur les fractions AcOEt, BuOH et sur l'acarbose utilisé comme standard de référence. Ces fractions ont été choisies parce qu'elles sont riches en composés phénoliques particulièrement en flavonoïdes et possèdent les meilleures activités anti-radicalaires. En effet, selon la littérature la présence de cette famille de composés bioactifs aurait des effets inhibiteurs sur l'activité de l'enzyme α-glucosidase [13]. Les résultats obtenus ont été présentés dans les **figures 1**.

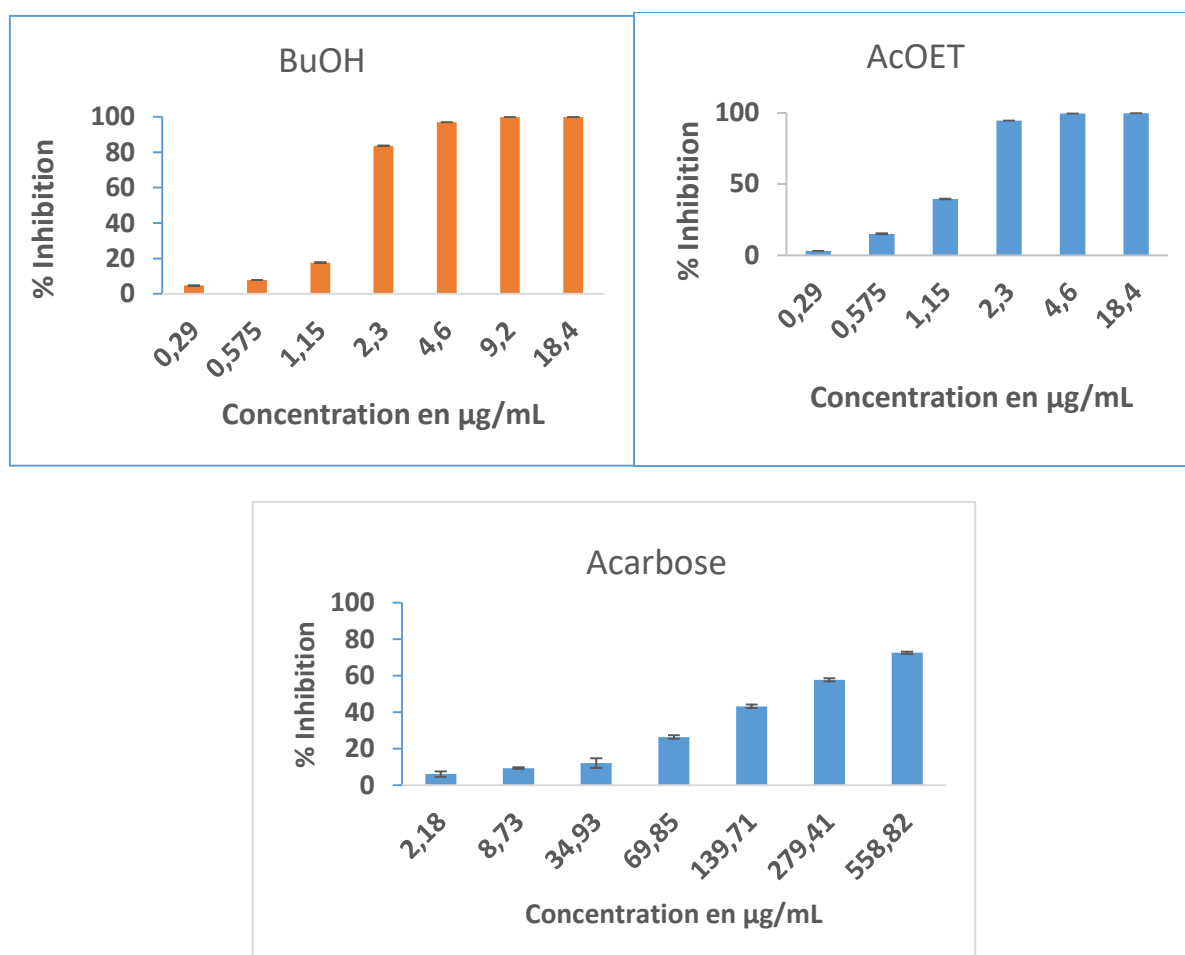


Figure 1: Activité inhibitrice des fractions de *E. hirta* L. (AcOEt, BuOH) et de l'Acarbose sur l'enzyme α-glucosidase

L'analyse de ces résultats montre que les fractions AcOEt et BuOH ont un effet sur l'inhibition de l'enzyme α-glucosidase dépendant de la concentration (**Figure 1**). Pour ce qui est de ces résultats la

fraction AcOEt la plus active avec un pourcentage d'inhibition atteignant 100% pour des concentrations supérieures à 2,3 µg/mL. Il est de 83,61% pour la fraction BuOH à la même concentration et devient maximal à des concentrations supérieures à 9,2 µg/mL. Cette activité pourrait être attribuée à la présence de composés phénoliques particulièrement les flavonoïdes dans les extraits. Ces résultats sont également confirmés par les valeurs des IC₅₀ (Cf. **tableau 3**), de 1,295 ± 0,035 µg/mL et 2,188 ± 0,204 µg/mL pour les fractions AcOEt et BuOH respectivement. Les valeurs de IC₅₀ de différentes fractions étant plus faibles que celle du standard Acarbose montrent que les deux fractions sont plus actives que l'Acarbose.

Tableau 3: IC₅₀ des fractions AcOET, BuOH et de l'Acarbose

Fractions	<i>E. hirta</i> L.		Standard
	AcOET	BuOH	Acarbose
IC ₅₀ (µg/mL)	1,295 ± 0,035	2,188 ± 0,204	214,825 ± 3,816

Une analyse approfondie de ces résultats montre une parfaite corrélation entre la teneur en composés polyphénols totaux et les propriétés antidiabétiques et ces résultats sont en accord avec les données de la littérature [14, 15].

1.1. Identification des flavonoïdes

Sur la base de la stratégie analytique ciblant les aglycones, chaque flavonoïde peut ensuite être entièrement identifié dans l'extrait AcOEt de *E. hirta* à partir de l'aglycone correspondant.

À titre d'exemple d'identification, les données suivantes sont obtenues pour les dérivés de la quercétine, à savoir le composé 12 et ses deux dérivés, 6 et 9. Outre le composé 12 qui est facilement identifié comme quercétine [16] sur la base des données HRMS, CID et du temps de rétention (Tableau 4), les composés 6 et 9 peuvent être identifiés sur la base des données rassemblées dans le Tableau 4. Le composé 6 est détecté à m/z 465 et m/z 463 dans les modes d'ions positifs et négatifs, respectivement. La différence de 2 uma entre les ions positifs et négatifs permet de les assigner comme [M+H]⁺ et [M-H]⁻, respectivement. De plus, lors des expériences de MSMS sur le Waters Synat G2-Si, les ions [M+H]⁺ et [M-H]⁻ subissent une perte de 162 u générant des ions fragments détectés à m/z 303 et m/z 301, correspondant aux ions aglycones. Par comparaison avec les données de la littérature [17], la présence de ces ions fragments est expliquée par la perte d'un résidu hexose [18, 19]. Il est également proposé dans la littérature qu'une 3-O-glycosylation est souvent détectée en comparant les intensités relatives des ions fragments [M-H-162-H]⁻ et [M-H-162]⁻ dans le spectre CID des ions précurseurs [M-H]⁻ [17]. La plus grande abondance des ions [M-H-162-H]⁻ révèle donc que l'hexose est attaché à l'aglycone en position 3-O [17]. Le composé 6 est donc proposé comme étant le quercétine-3-O-glycoside (isoquercétine). Pour le composé 9, les ions [M+H]⁺ détectés à m/z 449 en mode positif sont caractérisés par des ions fragments [M+H-146]⁺ intenses à m/z 303. En mode négatif, lorsqu'ils sont soumis à des expériences de MSMS, les ions précurseurs [M-H]⁻ à m/z 447 conduisent à deux ions fragments abondants à m/z 301 et m/z 300 pour respectivement [M-H-146]⁻ et [M-H-146-H]⁻, correspondant à la perte d'une unité rhamnose. De plus, la plus faible intensité du signal [M-H-146]⁻ par rapport au signal [M-H-146-H]⁻ indique que le site de glycosylation est 3-O selon la littérature. Le composé 9 est donc identifié comme étant la quercétine-3-O-rhamnoside (quercitrine) [17].

En ce qui concerne les dérivés de la myricétine (1, 4, 7 et 10), le composé 10 est attribué sans ambiguïté à la myricétine sur la base des données du tableau 4 [17]. Les composés 1 et 7 sont tous deux détectés comme des molécules protonées et déprotonées à m/z 481 et 479, respectivement dans les modes d'ions positifs et négatifs. Ces deux molécules sont des isomères dont la différence est associée à la position du résidu monoglycoside sur l'aglycone. Dans le spectre MSMS des ions précurseurs [M-H]⁻ du composé 7, la prédominance des ions fragments [M-H-162]⁻ par rapport aux ions [M-H-162-H]⁻ indique une fixation 7-O, alors que pour le composé 1, la situation inverse est observée, indiquant la position 3-O de l'hexose. Le composé 1 est donc identifié comme étant le myricétine-3-O-glucoside et le composé 7 comme étant le myricétine-7-O-glucoside. Le composé 4 est détecté sous forme d'ions [M+H]⁺ à m/z 465 et [M-H]⁻ à m/z 463. Le spectre CID des ions précurseurs [M+H]⁺ présente deux fragments caractéristiques à m/z 319 pour les ions [M+H-146]⁺ et à m/z 147 pour les ions [M+H-318]⁺ respectivement attribués à une perte de rhamnose ou à une perte d'aglycone de myricétine. Encore une fois, la prédominance des ions du fragment [M-H-146-H]⁻ par rapport aux ions [M-H-146]⁻ confirme la fixation en 3-O du rhamnose sur l'aglycone de la myricétine [16], ce qui signifie que le composé 4 est la myricétine-3-O-rhamnoside (myricétine). Ce résultat est en accord avec les données de la littérature [20], qui indiquent la présence de myricitrine dans les extraits de *E. hirta*.

Tableau 4 : Données sur les flavonoïdes de la fraction AcOEt de *E. hirta* L. analysé par la méthode LC-ESI-MS/MS en mode positif et négatif.

Pic N°	Tr, min	Formule	[M+H] ⁺	[M-H] ⁻	ESI ⁺ MS ² data	ESI-MS ² data
1	18,34	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₃	481,0843	479,0826	481(15), 319(100), 269(3), 167(2)	479(6), 318(4), 317(20), 316(100), 287(3), 271(4), 259(2), 179(0,4), 151(0,4), 137(0,1)
2	19,49	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	433,1332	431,0978	433(49), 343(13), 313(100), 283(21)	431(9), 341(8), 323(3), 312(18), 311(100), 283(32)
3	19,92	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	433,1332	431,0978	433(1), 313(93), 283(100)	431(9), 379(3), 341(45), 323(10), 312(17), 311(100), 283(38), 269(4)
4	19,93	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	465,1316	463,0877	319(100), 244(7), 171(4), 147(26), 129(17)	463(0,1), 318(9), 317(45), 316(100), 287(11), 271(4), 259(9), 179(0,6), 151(0,1)
5	20,58	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	-	447,0927	-	447(59), 286(10), 285(61), 284(100), 275(2), 227(1), 179(2), 175(1), 151(6), 133(1)
6	20,64	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	465,1316	463,0877	303(100), 163(3), 145(4)	463(0,1), 302(9), 301(59), 300(100), 272(5), 271(1), 255(6), 243(6), 227(1)
7	20,86	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₃	481,1225	479,0826	319(100)	479(65), 318(22), 317(100), 316(88), 301(18), 299(7), 287(5), 275(7), 243(8), 205(9), 179(8), 169(12), 151(9), 137(4)
8	21,96	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	-	447,0927	-	447(22), 285(35), 284(100), 255(17), 229(0,1), 227(26), 161, 151(1), 109
9	22,54	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	449,1332	447,0927	449(5), 303(100), 287(11), 147(25), 129(19)	447(10), 302(16), 301(65), 300(100), 272(30), 271(16), 255(14), 243(14), 227(2), 179(1), 163(2), 151(3)
10	23,35	C ₁₅ H ₁₀ O ₈	319,0634	317,0297	319(100), 237(25), 173(15)	317(33), 287(3), 271(13), 227(3), 217(1), 179(26), 165(47), 151(100), 137(87), 125(4), 109(36)
11	24,93	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	433,1332	431,0978	433(7), 287(100), 147(24), 129(18)	431(9), 286(9), 285(64), 284(100), 257(5), 255(37), 228(8), 227(36), 151(1),
12	27,46	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	303,0644	301,0348	303(100), 257(15), 137(15)	301(26), 273(20), 271(1), 255(6), 245(19), 229(6), 227(6), 179(16), 161(8), 151(100), 149(33), 139(9), 121(48), 109(4)
13	27,82	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	287,0698	285,0399	287(100)	285(66), 257(1), 217(1), 201(2), 199(2), 175(4), 171(1), 151(13), 149(4), 133(100)
14	31,50	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	287,0698	285,0399	287(100), 269(12), 225(36), 224(38), 194(37)	285(100), 257(2), 255(2), 243(1), 239(2), 229(4), 227(3), 211(3), 187(4), 185(4), 171(2), 159(3), 157(1), 151(1)

Cette stratégie analytique ne permet pas de distinguer les composés isomères 2 et 3 qui appartiennent aux dérivés de l'apigénine. En effet, les spectres CID des ions précurseurs $[M-H]^-$ (m/z 431) sont presque superposables comme le montre la Figure 2.

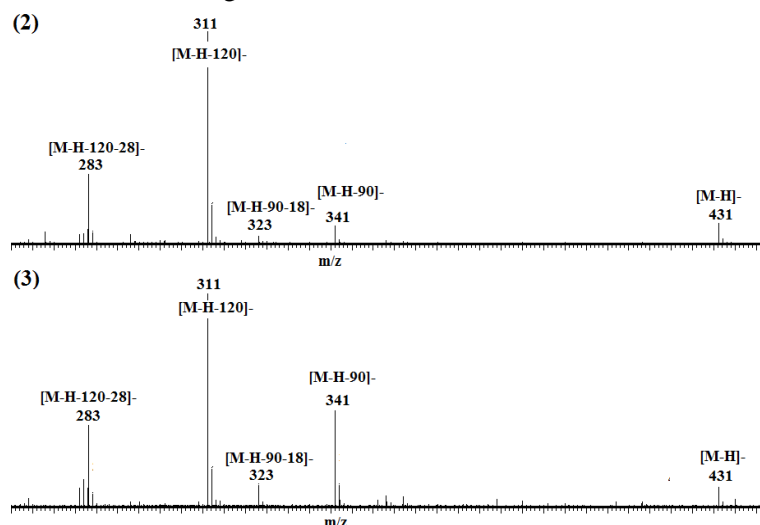


Figure 2: Spectres MS/MS des composés 2 et 3 à 60 eV

Néanmoins, plusieurs informations peuvent être déduites de l'analyse de ces spectres CID. Premièrement, selon les données de la littérature [21], la détection des ions fragments à m/z 341 $[M-H-90]^-$, et à m/z 311 $[M-H-120]^-$ indique une C-glycosylation dans les deux cas [21]. Comme aglycones candidats, la vitexine et l'isovitexine isomériques (Figure 3) peuvent être envisagées [21].

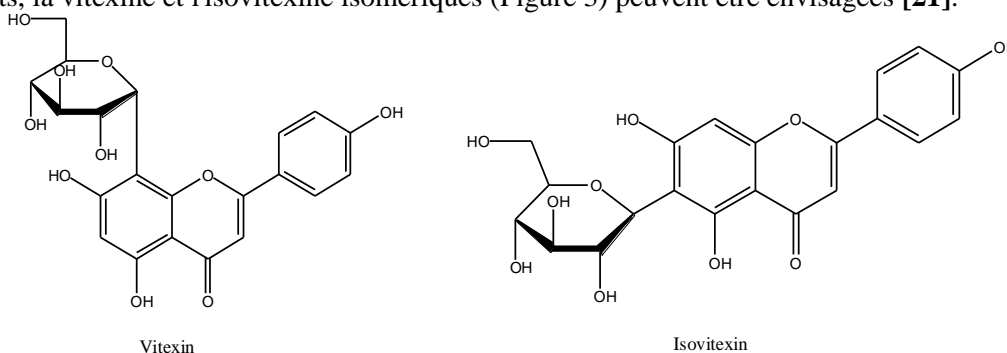


Figure 3: Structures chimiques de la vitexine et de l'isovitexine.

Dans la littérature récente, les expériences de spectrométrie de mobilité ionique (SMI) sont de plus en plus mises en œuvre dans la boîte à outils de la SM pour la caractérisation des produits naturels. Par exemple, des travaux récents ont permis d'introduire la SMI pour caractériser avec succès les saponines, des métabolites secondaires de plantes et d'animaux marins qui sont difficiles à caractériser [22]. La SMI a également déjà été utilisée pour la caractérisation des flavonoïdes [23]. Cette méthodologie permet la séparation temporelle des ions en fonction de leur mobilité dans une cellule remplie d'un buffer gazeux sous l'influence d'un champ électrique. Le temps de dérive (t_D) des ions à travers la cellule de mobilité est directement proportionnel à leur section de collision (CCS) qui reflète la forme tridimensionnelle des ions dans la phase gazeuse [24]. Afin de distinguer les isomères de vitexine et d'isovitexine, les ions $[M+H]^+$ correspondants sont soumis à des expériences SMI et les distributions de temps de dérive (ATD) sont enregistrées et présentées dans la Figure 4. Le temps de dérive des ions $[M+H]^+$ du composé 2 est trouvé plus faible (6,46 ms), que le temps de dérive du $[M+H]^+$ du composé 3 (6,84 ms), confirmant la présence d'aglycone isomérique. Ces ions ont déjà été étudiés par SMI et la comparaison directe des temps de dérive avec les données de la littérature [23] permet de proposer que les composés 2 et 3 sont respectivement la vitexine et l'isovitexine.

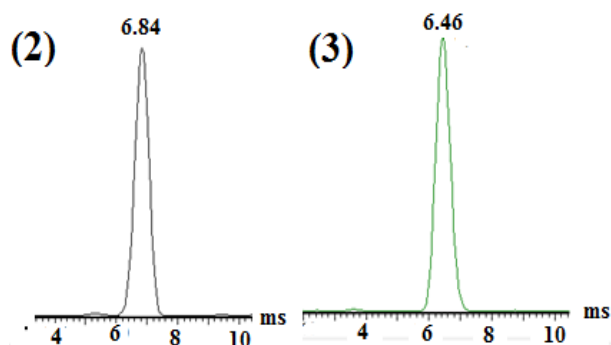


Figure 4: Temps de dérive des composés 2 et 3.

Parmi les 14 flavonoïdes détectés, 5 flavonoïdes, à savoir la myricétine-3-O-glucoside (1), la myricétine-7-O-glucoside (7), le kaempférol-3-O-glucoside (8), la vitexine (2) et l'isovitexine (3) sont rapportés pour la première fois dans les extraits de *E. hirta*.

2. Conclusion

Dans ce présent travail, l'inhibition des fractions de *E. hirta* L. sur l'enzyme α -glucosidase a été évaluée. Les résultats obtenus après investigation nous ont permis d'établir une corrélation entre cette activité et les composés polyphénoliques présents dans chaque fraction. L'analyse LC-MS/MS de la fraction AcOEt a permis de mettre en évidence la présence de 14 composés dont 5 sont identifier pour la première fois dans les extraits de *E. hirta*. Aux regard de ces résultats, l'utilisation des extraits de *E. hirta* pourrait être envisagé dans le traitement du diabète.

Références bibliographiques

1. S. Wild, G. Roglic, A. Green, R. Sicree, K. Hilary, Global Prevalence of Diabetes: Estimates for the year 2000 and projection for 2030. *Diabetes Care* 27. **2004**. 1047-1053. doi:10.2337/diacare.27.5.1047
2. M. Rodier, M. Rodier Définition et classification du diabète. Définition et classification du diabète. *Médecine Nucléaire Imag. Fonct. Métabolique*. **2001**. 25, 91-93.
3. D. Whiting, L. Guariguata, Weil, C., J. Shaw, IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes Res Clin Pr*. **2011**. 94, 311-21.
4. M. Y. Téné, C. G. Kyelem, S. M. Ouédraogo, D. Lankoandé, and M. M. Rouamba, "Caractéristiques cliniques des volontaires au dépistage du diabète : pistes pour la prévention au Burkina Faso," *Heal. Sci. Dis.*, **2014**. 15(1). 1-6.
5. "Rapport de l'enquête nationale sur la prévalence des principaux facteurs de risques communs aux maladies non transmissibles au Burkina Faso enquête steps 2013," Ministère de la santé, Burkina Faso, **2014**.
6. C. J. Bailey, Metformin: Effects on micro and macrovascular complications in type 2 diabetes. *Cardiovasc. Drugs Ther*. **2008**. 22, 215–224. doi:10.1007/s10557-008-6092-0
7. P. J. Grant, Beneficial effects of metformin on haemostasis and vascular function in man. *Diabetes Metab*. **2003**. 29, 6S44-6S52. doi:10.1016/S1262-3636(03)72787-6
8. M. June, C. N. Kimani, J. M. Mbaria, M. Suleiman, D. Gakuya, S. G. Kiama, Antihyperglycemic activity of *Zanthoxylum chalybeum* stem bark extract in diabetic rats. *J. Phytopharm*. **2015**. 4, 183-189.
9. H. Pareek, S. Sharma, B. S. Khajja, K. Jain, G. C. Jain, Evaluation of hypoglycemic and anti-hyperglycemic potential of *Tridax procumbens* (Linn.). *BMC Complement. Altern. Med*. **2009**. 9(48). doi:10.1186/1472-6882-9-48
10. M. A. Sheliya et al., "In vitro α -glucosidase and α -amylase inhibition by aqueous, hydroalcoholic, and alcoholic extract of *Euphorbia hirta* L.," *Drug Dev. Ther*. **2016**. 7(1) 26-30.
11. K. Mohan and R. Balsamy, "Inhibitory effect of *Gymnema montanum* leaves on α -glucosidase activity and α -amylase activity and their relationship with polyphenolic content," *Med. Chem. Res.*, 2010. 19(8). 948-961,
12. Y. Karanga, O. Ilboudo, S. Bonzi, I. Tapsoba, I. Somda, Y. Bonzi-Coulibaly, Phytochemical and Antifungal Properties of *Euphorbia hirta* L. against *Fusarium moliniforme* and *Phoma sorghina*. *Nat. Prod. Ind. J*. **2017**. 13. 105.
13. K. Mohan and R. Balsamy, "Inhibitory effect of *Gymnema Montanum* leaves on α -glucosidase activity and α -amylase activity and their relationship with polyphenolic content," *Med. Chem. Res.*, **2010**. 19. 948-961,
14. T. T. Mai, N. N. Thu, P. G. Tien, and N. Van Chuyen, "Alpha-glucosidase inhibitory and antioxidant activities of vietnamese edible plants and their relationships with polyphenol contents," *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)*, **2007**. 53(3). 267-276,
15. A. Bello, A. A. Aliero, Y. Saidu, S. Muhammad, U. Musa, and P. M. B. Katsina, "Phytochemical screening, Polyphenolic Content and Alpha-Glucosidase Inhibitory Potential of *Leptadenia hastata* (Pers.) Decne," *Niger. J. Basic Appl. Sci.*, **2011**. 19(2). 181-186,

16. G. Rak, P. Fodor, L. Abrankó, Three-step HPLC-ESI-MS/MS procedure for screening and identifying non-target flavonoid derivatives. *Int. J. Mass Spectrom.* **2010.** 290. 32-38.
17. Z. H. Li, H. Guo, W. B. Xu, J. Ge, X. Li, M. Alimu and D. J. He, Rapid Identification of Flavonoid Constituents Directly from PTP1B Inhibitive Extract of Raspberry (*Rubus idaeus* L.) Leaves by HPLC-ESI-QTOF-MS-MS. *J. Chromato. Sci.* **2016.** 54. 805-810.
18. A. M. Khan, R. A. Qurshi, F. Ullah, Z. K. Shinwari and J. Khan, Flavonoids distribution in selected medicinal plants of Margalla hills and Surrounding. *Pak. J. Bot.* **2012.** 44 (4). 1241-1245.
19. Y. Wu, W. Qu, D. Geng, J. Y. Liang, Y. L. Luo, Phenols and flavonoids from the aerial part of *Euphorbia hirta*. *Chinese Journal of Natural Medicines*, **2012.** 10. 40-42.
20. A. Kandalkar, A. Patel, S. Darade and D. Baviskar, Free radical scavenging activity of *Euphorbia hirta* L. leaves and isolation of active flavonoid Myricitrin. *Asian Journal of pharmaceutical and Clinical Research*, **2010.** 3. 234-237.
21. M. Pikulski, J. S. Brodbelt, Differentiation-of-flavonoid-glycoside-isomers-by-using-metal-complexation-and-electrospray-ionization-mass-spectrometry. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, **2003.** 14. 1437-1453.
22. C. Decroo, E. Colson, V. Lemaur, G. Caulier, J. D. Winter, G. Cabrera-Barjas, J. Cornil, P. Flammang, P. Gerbaux, Ion Mobility Mass Spectrometry of Saponin Ions. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2019.** 33. 22-33.
23. M. McCullagh, C. A. M. Periera, J. H. Yariwake, D. Douce, using the routine separation dimension and identification criteria of ionkey MS ion mobility to enhance specificity in screening complex samples. *Waters Corporation*, **2016.** 1-6.
24. Q. Duez, F. Chirot, R. Liénard, T. Josse, C. Choi, O. Coulembier, P. Dugourd, J. Cornil, P. Gerbaux, J. D. Winter, Polymers for Traveling Wave Ion Mobility Spectrometry Calibration. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, **2017.** 28. 2483-2491.

Teneur en composés phytochimiques, criblage et activités antioxydantes/pro-oxydantes des écorces de *Carapa procera* (Méliacées)

Insa Seck^{a,b*}, Anamaria. Hosu^c, Claudia Cimpoiu^c, Samba Fama Ndoye^a, Lala Aicha Ba^a, Cheikh Sall^a, Matar Seck^a

^a *Organic Chemistry and Therapeutic Chemistry Laboratory, Faculty of Medicine, Pharmacy and Odontology, Cheikh Anta Diop University of Dakar, BP 5005 Dakar-Fann, Dakar, Senegal*

^b *Organic Coordination Chemistry Laboratory, Chemistry Department, Faculty of Sciences and Techniques, Cheikh Anta Diop University of Dakar, BP 5005 Dakar-Fann, Dakar, Senegal*

^c *Faculty of Chemistry and Chemical Engineering, Babes-Bolyai University, 11 Arany Janos, 400082 Cluj-Napoca, Romania*

Résumé : Les teneurs en phénols, flavonoïdes et tanins ainsi que les activités antioxydantes et pro-oxydantes de *Carapa procera* (CP) ont été étudiées. L'activité antioxydante de CP a été évaluée par le dosage du 1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyl (DPPH), la méthode du pouvoir réducteur ferrique/antioxydant (FRAP) et la méthode du 2,20-azino bis(3-éthylbenz-thiazoline-6- acide sulfonique) (ABTS). L'étude de l'activité pro-oxydante était basée sur la production d'énergie de l'ion fer dans la réaction de Fenton. La teneur phénolique totale de l'extrait présentait une valeur élevée de 8,2 mg d'équivalents d'acide gallique (GAE) / g de Carapa. L'étude a révélé un pourcentage de flavonoïdes 0,04% et 0,24 mg d'équivalents d'acide tannique (TAE)/g de Carapa pour la teneur en tanin (TC). Les proanthocyanidines étaient moins représentées parmi les tanins 6,80% de l'extrait. Les empreintes chromatographiques ont montré des tanins et d'acides, comme la (+)-catéchine, l'épicatéchine, le trans-4-hydroxycinnamique, le 3,4-hydroxycinnamique et l'acide chlorogénique. Le CP a montré une activité antioxydante élevée dans les deux dosages DPPH et ABTS, soit 10,45 mg eq vitamine C/g de Carapa et 500 mmol Trolox/g de Carapa, respectivement. Le FRAP a donné un bon résultat de 2,45 mg équivalent vitamine C/g de Carapa. L'activité pro-oxydante était de 24,25 mg/ml d'extrait de Carapa. Le criblage phytochimique a fait l'objet d'investigations afin d'identifier les constituants chimiques présents dans les plantes médicinales, telles que CP et d'évaluer leurs potentielles activités biologiques.

Mots Clés : Activité pro-oxydante, Analyse phytochimique, *Carapa procera*, Autobiographie, Méliacées, Activité antioxydante.

Phytochemicals content, screening and antioxidant/pro-oxidant activities of *Carapa procera* (barks) (Meliaceae)

Abstract: Total phenolic, flavonoid and tannin contents together with antioxidant and pro-oxidant activities of *Carapa procera* were investigated. The antioxidant activity of *Carapa procera* was evaluated by 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) assay, ferric reducing/ antioxidant power (FRAP) method and 2,20-azino bis(3-ethylbenz-thiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) assay. The study of pro-oxidant activity was based on the power-producing of iron ion in the Fenton reaction. The total phenolic content (TPC) of the extract was exhibiting high value of 8.2 mg gallic acid equivalents (GAE)/g of dried Carapa. The study revealed a low percentage of flavonoids 0.04% in the extract and 0.24 mg of tannic acid equivalents (TAE)/g of dried Carapa for the tannin content (TC). Proanthocyanidins were less represented among the tannins 6.80% of the extract. The chromatographic fingerprints showed the presence of tannins and acid, like (+)-catechin, epicatechin, trans-4-hydroxycinnamic, 3,4-hydroxycinnamic and acid chlorogenic. *Carapa procera* exhibited high antioxidant activity in both DPPH and ABTS assays, being 10.45 mg Vitamin C equivalents/g of dried Carapa and 500 mmol Trolox/g of dried Carapa, respectively. The FRAP gave a good result of 2.45 mg Vitamin C equivalents /g of dried Carapa. The pro-oxidant activity was 24.25 mg/ml of Carapa extract. The phytochemical screening was the subject of intensive investigations in order to identify the chemical constituents present in medicinal plants, such as *Carapa procera* and to evaluate their potential biological activities.

Keywords: Pro-oxidant activity, Phytochemical analysis, *Carapa procera*, Autobiography, Meliaceae, Antioxidant activity, HPTLC

1. Introduction

Plusieurs études épidémiologiques ont indiqué qu'un taux élevé la consommation de produits végétaux est associée à un risque réduit d'un certain nombre de maladies chroniques, telles que l'athérosclérose et le cancer [1, 2]. Ces effets bénéfiques ont été en partie attribués aux composés qui possèdent une activité antioxydante. Les antioxydants naturels peuvent exercer leur effet à travers une variété de mécanismes et il est donc important de prouver leurs activités. Les Vitamines C et E, caroténoïdes et composés phénoliques, notamment les flavonoïdes sont les principaux antioxydants des légumes [3]. Les antioxydants éliminent les radicaux et inhibent l'initiation

de la chaîne ou rupture de la propagation de la chaîne (la deuxième ligne de défense). L'activité pro-oxydant fait référence à tout endobiotique ou xénobiotique qui induit un stress oxydatif soit par génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) ou en inhibant les systèmes antioxydants. Il peut comprendre toutes les molécules réactives contenant des radicaux libres dans les cellules ou les tissus. Les pro-oxydants sont définis comme des produits chimiques qui induisent un stress oxydatif, généralement par la génération de ROS ou en inhibant les systèmes antioxydants [4]. Les radicaux libres sont considérés comme pro-oxydants, mais les antioxydants peuvent également avoir un comportement pro-oxydant dans divers milieux et conditions. Par exemple, la vitamine C est considérée comme un puissant antioxydant et intervient dans de nombreuses réactions physiologiques, mais elle peut aussi devenir un pro-oxydant. Cela se produit lorsqu'il se combine avec du fer et du cuivre réduit de Fe^{3+} en Fe^{2+} (ou Cu^{3+} en Cu^{2+}), qui à son tour réduit le peroxyde d'hydrogène en radicaux hydroxyle [5]. Ainsi, il est important de déterminer les activités antioxydantes et pro-oxydantes des plantes médicinales utilisées par les populations du Sénégal (Afrique de l'Ouest). De nombreuses plantes de la flore sénégalaise sont utilisées à des fins thérapeutiques, l'une des plus utilisées étant le *Carapa procera*. Il est connu sous le nom de "crab-wood" en anglais et Touloucouna en wolof, étant un arbre qui peut atteindre jusqu'à 20 m de hauteur, appartenant à la famille des Meliaceae. En Afrique, ses populations s'étendent du Sénégal à la RD. Congo via l'Angola [6]. Le *Carapa procera* est une espèce polyvalente comme la plupart des plantes de la famille des Meliacées : toxique contre les lignées cellulaires tumorales et activités anti-insectes, anti-appétissants, antipaludéen, utérotonique [7]. Les graines et l'huile de *Carapa procera* ont été étudiées concernant l'analyse des tétranortriterpénoïdes, composés qui présentent une toxicité pour les insectes et présentent une forte activité anti-clonogénique [8]. L'exploitation excessive de l'huile est due à son importance dans la médecine traditionnelle. Les graines contiennent 50-60% d'huile, la concentration en acide oléique étant élevée (59,1%) [9]. Des études antérieures ont également montré que les graines sont dotées des propriétés analgésiques, anti-inflammatoire, insecticides, antibactériennes, antiparasitaires, antiallergiques et anticancéreuses [10, 11]. Des études des activités antiplasmodiales ont été réalisées sur les feuilles et les tiges d'écorce [12]. Sarpong et al. (2016) [13] avaient étudié l'action antipaludique de feuilles et extraits d'écorce de tige. Malgré les nombreux usages médicaux attribués à cette plante, il n'y a pas de rapport pharmacognosique pour l'extrait hydro-alcoolique de *Carapa procera*. Les valeurs thérapeutiques de diverses plantes médicinales sont associées à la présence de certains composés phytochimiques et à leur propriété antioxydante. Les antioxydants sont devenus indispensables dans la technologie de conservation des aliments et des soins de santé contemporains. Afin d'évaluer l'activité antioxydante des produits naturels, il est nécessaire d'étudier les principaux constituants, qui sont impliqués dans de telles activités. Dans ce contexte, le but du présent article consiste à évaluer certains composés phytochimiques, à savoir les flavonoïdes, les composés phénoliques, les tanins, les proanthocyanidines et à cribler le potentiel antioxydant et pro-oxydant de *Carapa procera*. A notre connaissance, c'est la première fois que de telles études sont faites sur *Carapa procera*.

2. Matériel et méthodes

2.1. Produits chimiques et réactifs

1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH), sel de diammonium de l'acide 2,2-azinobis (3-éthylbenzthiazolin-6-sulfonique) (ABTS), acide 6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthylchromane-2-carboxylique (Trolox), acide ascorbique (vitamine C), 2,4,6-tripyridil-5-triazine (TPTZ), 2-amino-éthyl-diphénylborate, acide gallique, caséine, réactif de Folin Ciocalteu, chlorhydrique l'acide et le persulfate de sodium ($K_2S_2O_8$) ont été achetés chez Merck (Darmstadt, Allemagne). Chlorure d'aluminium ($AlCl_3$), acétate de sodium (CH_3COONa), bisulfite de sodium ($NaHSO_3$), carbonate de sodium (Na_2CO_3), acétate de plomb ($(CH_3COO)_2Pb$), chlorure ferrique ($FeCl_3$), ferricyanure de potassium ($K_3[Fe(CN)_6]$), sulfate ferrique d'ammonium ($NH_4Fe(SO_4)_2$), l'ammoniac, l'acétate d'éthyle, l'acétone et le méthanol ont été obtenus à partir de Chimopar (Bucarest, Roumanie). Tous les produits chimiques et solvants ont été qualité analytique.

2.2. Collecte et authentification des plantes

Les écorces de *Carapa procera* étaient récoltées en Casamance (Miombo département d'Oussouye, Sénégal, 12°-33'-11''-nord, 16°-35'-39''-ouest) et identifiée sous le numéro de spécimen 1642, dans la collection de plantes et herbes sèches du Laboratoire de Pharmacognosie de la Faculté de médecine, de pharmacie et d'odontologie par le professeur William Diatta. Ils ont été lavés à l'eau du robinet puis séchés à l'ombre à 25 °C pendant une semaine avant d'être broyé avec un broyeur. La poudre obtenue a été stockée dans des contenants hermétiques et laissée à température ambiante (25°C). La poudre a été utilisée pour la préparation de l'extrait.

2.3. Extraction

La poudre d'écorce de *Carapa procera* a été extraite par différents techniques utilisant divers solvants. Tout d'abord, 5 g de poudre d'écorce ont été mélangés avec 50 ml de MeOH/H₂O 8:2 v/v et macérés pendant dix jours. Après filtration sur papier filtre, la procédure a été répétée deux fois de plus, puis les trois filtrats ont été combinés et évaporés à sec. L'extrait final a été utilisé pour le criblage de différentes classes de constituants et pour la détermination des activités antioxydantes et pro-oxydantes. Deuxièmement, 1 g de poudre d'écorce a été soumis à l'extraction par ultrasons en utilisant 10 ml des solvants suivants : MeOH/H₂O 8:2 v/v, et acétate d'éthyle (AcOEt). Chaque échantillon a été incubé dans l'appareil à ultrasons à bain thermostatique Elmasonic E60H à 30 °C, pendant 30 min. Puis les mélanges ont été centrifugés à 875 g pendant 30 min et les surnageants obtenus ont été utilisés

pour une analyse plus approfondie. L'extraction des tanins condensés a été réalisée par macération selon la méthode de Zhang et al. (2008) [14] avec quelques modifications. Cinq grammes de poudre d'écorce ont été mélangés avec 50 ml d'acétone/eau 7:3 v/v et conservés à température ambiante pendant 3 jours en remuant de temps en temps. Le mélange a été filtré avec du papier filtre (2,5 mm) et le surnageant a été évaporé sous vide à 40°C pour éliminer l'acétone. La phase aqueuse est lavée avec du dichlorométhane pour éliminer les composés liposolubles, puis il a été extrait deux fois avec de l'acétate d'éthyle 1:1v/v. Puis la phase d'acétate d'éthyle contenant les tanins a été récupérée par distillation puis évaporée à 77°C pour éliminer les traces d'eau.

2.4. Essais phytochimiques préliminaires

Les extraits hydro-alcooliques ont été analysés pour cribler les alcaloïdes, saponines, tanins, glycosides et flavonoïdes par les procédures suivantes.

2.4.1. Test pour les alcaloïdes

La présence d'alcaloïdes a été testée par le test de Dragendorff, Test de Mayer, test de Wagner [15]. La présence d'un précipité rouge orangé, d'un précipité jaune blanchâtre ou crème et d'un précipité brun rougeâtre indique respectivement la présence d'alcaloïdes.

2.4.2. Test pour les saponines

L'extrait hydro-alcoolique (0,5 g) a été mélangé séparément avec 20 ml d'eau distillée et agitée pendant 15 min. L'apparition de 1 cm de couche de mousse indique la présence de saponines [15].

2.4.3. Tester les tanins

La présence de tanins a été testée par réaction avec (1)-base solution d'acétate de plomb (25%), (2)-solution de chlorure ferrique (2%) et (3)-cyanure ferrique de potassium (8 mM) et solution d'ammoniaque (28 %) [15]. La formation de précipité blanc dans réaction (1), couleur bleu foncé ou noir verdâtre dans la réaction (2) et la couleur rouge foncé dans la réaction (3) indique la présence de tanins.

2.4.4. Test pour les glycosides

Une aliquote de 0,4 g d'extrait hydro-alcoolique a été mélangée avec 20 ml d'eau distillée et 1 ml d'acide chlorhydrique concentré (37%) et le mélange a été bouilli dans un bain-marie pendant 15 min. Le mélange chaud a été filtré et refroidi, puis les glycosides ont été extraits avec 10 ml de chloroforme dans une ampoule à décanter. La solution chloroformique est ensuite évaporée à sec et l'extrait sec a été repris avec 2 ml d'ammoniaque (25 %) [15]. L'apparition d'une couleur jaune qui vire au rouge par chauffage indique la présence d'antraquinones glycosides. 1g d'extrait a été lavé deux fois avec 4 ml d'éther de pétrole pendant le dégraissage, puis décanté, séché à l'air et introduit dans un tube à essai avec 5 ml de mélange chloroforme/éthanol (4:1, v/v). Le mélange a été maintenu pendant une demi-heure sous agitation occasionnelle puis filtré. Le filtrat a été divisé et placé dans trois tubes à hémolyse. Le réactif de Baljet (0,5 ml) a été ajouté dans le premier tube, 0,5 ml de réactif de Kedde a été mis dans le deuxième tube et 0,5 ml de réactif de Raymond-Marthouba a été ajouté dans le troisième tube. Ensuite, 2 gouttes de NaOH éthanolique ont été ajoutées dans chaque tube et le tube a été secoué vigoureusement. L'apparition d'une couleur rouge orangé stable dans le tube 1, d'une couleur rouge violet stable dans le tube 2 et une couleur violette fugace dans le tube 3 indique la présence de glycosides cardiotoniques.

2.4.5. Test pour les flavonoïdes

La présence de flavonoïdes a été testée en mélangeant 2 ml d'extrait hydroalcoolique avec 2 gouttes de FeCl₃ à 2 %. L'apparition de couleur verte indique l'existence de composés flavonoïdes.

2.5. Détermination quantitative phytochimique

2.5.1. Détermination de la teneur totale en composés phénoliques (TPC)

1,5 ml de réactif de Folin Ciocalteu (0,2 mol/l) ont été ajoutés à 0,3 ml du macérat convenablement dilué avec de l'eau distillée pour assurer que l'absorbance après réaction sera de l'ordre de 0,200-0,800. On laisse le mélange réactionnel réagir 5 min et puis, 1,2 ml de Na₂CO₃ à 0,7 mol/l ont été ajoutés. Les échantillons ont été incubés à la température ambiante dans l'obscurité pendant 120 min, et l'absorbance a été lue à 760 nm. Le résultat a été exprimé en mg d'équivalents d'acide gallique (GAE)/g de Carapa séchée sur la base de la courbe d'étalonnage (0-100 µg d'acide gallique/mL) [16].

2.5.2. Détermination de la teneur totale en tanins (TTC)

Le TTC a été déterminé par la méthode de Singleton [17]. Préparation de la solution d'acide tannique pour la courbe d'étalonnage : un stock une solution d'acide tannique (0,102 mg/ml) a été préparée dans l'eau. Les aliquotes de 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,2 et 1,4 ml ont été transférés dans des fioles jaugées de 10 ml et 0,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (0,2 mol/l) et 1 ml de solution de carbonate de sodium (0,7 mol/l) ont été ajoutés puis le volume a été complété avec de l'eau distillée. Les concentrations finales des solutions utilisées pour la courbe d'étalonnage ont été 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12 et 14 µg/ml, respectivement. Après 30 min l'absorbance de chaque échantillon était lue à 760 nm.

Quantification des composés phénoliques totaux : Le macérat (0,1 ml) a été transféré avec une pipette jaugée dans une fiole jaugée de 10 ml et complétée le volume. Ensuite, la même procédure utilisée pour obtenir la courbe d'étalonnage a été appliquée et l'absorbance de l'échantillon a été lue à 760 nm. Le taux de phénol total a été déterminé sur la base d'une courbe d'étalonnage.

Dosage des composés phénoliques résiduels : dans 3 ml de macérat, 0,5 g de caséine et 6 ml d'eau ont été ajoutés. Le mélange a été agité pendant 3 h à la température ambiante puis filtrée dans une fiole jaugée de 25 ml. Une aliquote de 0,3 ml de solution de filtrat a été transférée dans un fiole jaugée de 10 ml et remplir le volume. Ensuite, le protocole décrit pour la quantification du phénol total a été répété et la quantité de phénol résiduel a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage.

Détermination des teneurs en tanins : Dans cette méthodologie, la teneur en tanins a été calculée comme la différence entre les taux de phénol total et de phénol résiduel, car les tanins sont éliminés de l'échantillon par complexation avec la caséine.

2.5.3. Détermination des proanthocyanidines

La quantité de proanthocyanidines a été déterminée par la méthode de Portret [18]. Dans un tube test de 100 mm x 12 mm, 0,50 ml de l'extrait (0,1 g/mL) a été prélevé et dilué avec 70 % d'acétone pour que l'absorbance à 550 nm après dosage ne dépasse pas 0,6. Le volume d'acétone ajouté dépend de la quantité de tanins condensés de l'échantillon et devra parfois être déterminé par essais et erreurs. Après cela, 3,0 ml de butanol-HCl réactif (butanol-37% HCl 95:5 v/v) et 0,1 ml du réactif ferrique (sulfate d'ammonium ferrique à 2 % dans du HCl 2 N stocké dans une bouteille sombre) ont été ajoutés au tube et vortexé. Le tube était recouvert d'un verre marbre et a été placé dans un bloc chauffant à 97°C-100 °C pendant 60 min. Ensuite, l'absorbance a été mesurée à 550 nm. Tanins condensés (% en matière sèche) ont été calculés par la formule :

$$A_{550 \text{ nm}} \times 78.26 \times \text{facteur de dilution/matière sèche (\%)}$$

2.5.4. Détermination de la teneur totale en flavonoïdes

Pour la détermination de la teneur en flavonoïdes, 2 ml de l'extrait ont été traités avec 100 ml de solution méthanolique de 2-amino-éthylidiphénylborate (NEU) (1%) Après lecture de l'absorbance à 409 nm la teneur en flavonoïdes a été déterminée à partir de la formule suivante [19] :

$$F\% = [A (\text{extrait}) \times 0.05 / A (\text{quercétine}) \times C (\text{extrait})] \times 100$$

2.6. Analyse d'empreintes digitales HPTLC

L'analyse d'empreinte HPTLC a été réalisée sur du gel de silice 60F254 Feuilles d'aluminium HPTLC utilisant de l'acétate d'éthyle/acide formique/acide acétique/l'eau, 20:2:2:4 (v/v/v/v) comme phase mobile [20]. La détection a été réalisée sous lumière visible et UV avant et après trempage des plaques dans une solution de FeCl₃ à 2 %. Les extraits d'écorces de *Carapa procera* (10 ml) et 5 ml de solutions étalons (1 mg/ml) d'acide chlorogénique, l'acide 3,4-dihydroxybenzoïque, l'acide trans-4-hydroxycinnamique, la (+)-catéchine, l'épigallocatechine, l'acide gallique, la (-)-épicatéchine et l'acide 3,4-dihydroxycinnamique ont été appliqués sur la plaque HPTLC sous forme de bandes de 8 mm, espacés de 4 mm les uns des autres, à 10 mm du bord de la couche et à 15 mm de la gauche et de la droite de la plaque à l'aide d'un échantillonneur semi-automatique CCM Linomat 5 (CAMAG, Muttenz, Suisse). La plaque a été développée à une distance de 8 cm dans une chambre double de 20 cm x 10 cm (CAMAG, Muttenz, Suisse). La documentation de la plaque développée a été réalisée sous lumière visible, lumière UV 254 nm et 366 nm en utilisant CAMAG Reprostar 3 (CAMAG, Muttenz, Suisse) avec WinCATS Logiciel.

2.7. Détermination de l'activité antioxydante in vitro

L'activité antioxydante a été déterminée à l'aide du test DPPH [21], test ABTS [22] partiellement modifié par Cimpoiu et al. (2011) [23] et test FRAP [24].

2.7.1. Dosage DPPH

L'extrait dilué approprié (0,25 ml) a été ajouté à 3,0 ml de solution méthanolique de DPPH (0,09 mg/mL). L'absorbance du mélange réactionnel a été mesurée à 517 nm, après 20 min. La courbe d'étalonnage a été obtenue en suivant la même procédure en utilisant la vitamine C comme référence dans l'intervalle de 0,150-0,275 mg/mL. Les résultats ont été exprimés en équivalents de vitamine C/g de carapa séché.

2.7.2. Test ABTS

Le radical cationique ABTS⁺ est issu de la réaction de 7 mmol/l de solution de sel de diammonium ABTS et 2,45 mmol/l de K₂S₂O₈ solution mélangée dans un rapport 1: 1 (v / v), incubée pendant 24 h à la température ambiante dans l'obscurité. Ensuite, 0,5 ml d'extrait (0,1 g/ml) a été ajouté à 3 mL de solution ABTS⁺ correctement diluée pour obtenir une absorbance autour de 0,8, et l'absorbance a été mesurée à 734 nm, après 20 min. Solutions de Trolox avec différentes concentrations entre 1,10 et 1,35 mol/mL ont été utilisés pour obtenir la courbe d'étalonnage pour le calcul de l'activité antioxydante de *Carapa procera*. Les résultats ont été exprimés en équivalents Trolox/g de Carapa séché.

2.7.3. Dosage FRAP

Trois solutions mères ont été préparées : tampon acétate (300 mM, pH 3.6), solution FeCl₃ anhydre (20 mM) et solution TPTZ 10 mM obtenu en dissolvant 46,85 mg du réactif TPTZ dans 15 ml d'Acide chlorhydrique 40 mM. La solution de travail (réactif FRAP) a été fraîchement préparée en mélangeant le tampon acétate, la solution TPTZ et FeCl₃ dans le rapport de 10:1:1 v/v/v, respectivement et en incubation pendant 20 min à 37°C. Après cela, le mélange a été chauffé à 37°C et 2,85 ml du mélange ont été mélangés avec 0,15 ml d'extrait et maintenus dans l'obscurité pendant 30 minutes. L'absorbance a été mesurée à 593 nm et le résultat a été exprimé en équivalents vitamine C/g de Carapa séché.

2.8. Activité pro-oxydante

Le macérat a été dilué avec de l'eau distillée afin d'avoir la concentration finale dans la gamme de 0,1 à 0,01 g/ml. Les volumes égaux (2 ml) de chaque solution et une solution de ferricyanure de potassium (1 %) ont été mélangés et incubés à 50°C pendant 20 min. Après cela, 2 ml de solution d'acide trichloracétique (35%) ont été ajoutés et le mélange a été centrifugé (Centurion Scientific C2006, Bosham, UK) pendant 10 min à 875 g. Une aliquote de surnageant (2 ml) a été mélangée avec 2 ml d'eau distillée et 0,5 ml de solution de FeCl₃ (0,1 %) et l'absorbance de la solution obtenue était rouge à 700 nm en utilisant de l'eau comme blanc. L'activité pro-oxydante a été calculée à partir d'une régression linéaire obtenue à partir de l'absorbance de l'extrait de *Carapa procera* par rapport à leurs concentrations et a été exprimée en concentration (mg/mL) pour absorbance fixée à la valeur arbitraire de 1.000 [25].

2.9. Bioautographie antioxydante

La bioautographie antioxydante a été réalisée par HPTLC. Des échantillons de 5 ml pour les composés standards et 10 ml pour les extraits ont été appliqués avec un applicateur d'échantillons Linomat 5 (CAMAG, Muttenz, Suisse) à une distance de 10 mm du bord inférieur de la plaque en bandes de 7 mm, avec une distance de piste de 5 mm. Les séparations HPTLC unidimensionnelles ont été réalisées dans une chambre jumelle de 20 cm x 10 cm (CAMAG) saturée pendant 10 min avec de l'acétate d'éthyle/toluène/acide formique/méthanol, 3:3:0.8:0.8 v/v/v/v comme phase mobile. La plaque chromatographique développée à la distance de 75 mm a été séchée pendant 5 min par un flux d'air d'un sèche-cheveux et visualisée à l'aide d'une lampe UV ($\lambda = 254$ ou light) (CAMAG) avant et après. La plaque développée séchée a été pulvérisée avec une solution méthanolique de DPPH (0,04 M) pendant 10 s, séchée à la température ambiante et stockée dans l'obscurité. L'antioxydant des composés apparaissait sous la forme d'une zone jaune vif sur fond violet. La documentation des plaques a été réalisée dans le visible 30 min après immersion.

3. Résultats et discussion

Les métabolites secondaires sont les principaux composés des plantes qui peuvent être détectés par criblage phytochimique. Le criblage phytochimique de *Carapa procera* a montré que les extraits contenaient principalement des tanins et des saponines. La présence de saponines suggère que les écorces de *Carapa procera* peuvent avoir une activité antimicrobienne puisqu'il a été rapporté que ces composés ont un effet antimicrobien et pourraient servir de précurseurs de substances stéroïdiennes avec un large éventail de propriétés physiologiques [26]. D'autres composés identifiés sont des flavonoïdes qui ont de nombreuses fonctions biologiques dont la protection contre les allergies, l'inflammation, les radicaux libres, l'agrégation plaquettaire, microbes, ulcères, hépatotoxines et tumeurs [27]. Les glycosides anthracéniques et cardiotoniques sont présents, mais en faible quantité et les alcaloïdes sont complètement absents de l'extrait (tableau 1). Des études de ces classes de composés dans l'extrait brut hydro-alcoolique d'écorces de *Carapa procera* n'ont pas été signalées auparavant, bien que des composés phénoliques et des flavonoïdes aient été identifiés dans les feuilles de *Carapa procera* [28] et approximativement les mêmes classes ont été identifiées dans les écorces d'autres plantes de la même famille [29].

Tableau 18: Analyse phytochimique de l'extrait hydro alcoolique de *Carapa procera*

Les constituants d'extrait hydro alcoolique de la plante	
Alcaloïdes	-
Saponosides	+++
Flavonoïdes	++
Tannins	+++
Glycosides anthracéniques	+
Glycosides cardiotoniques	+

«-» absence de constituants, «+» présence de constituants

3.1. Détermination phytochimique quantitative

Cette étude portait sur le dosage quantitatif des composés phénoliques, flavonoïdes, tanins et proanthocyanidines. Les phénoliques sont connus de leur activité antioxydante, principalement en raison de leurs propriétés redox. Ils agissent comme agents réducteurs, donneurs d'hydrogène et extincteurs d'oxygène singulet [30]. Le TPC est de 8,2 mg de GAE/g de *Carapa* séché qui est une teneur plus élevée par rapport à celle obtenue dans les graines de *Carapa procera* [31, 32]. Aussi, les écorces de *Carapa procera* contiennent plus de composés phénoliques que les extraits d'Andiroba (*Carapa guianensis*), une autre plante du genre *Carapa*, dans laquelle la quantité de polyphénols était de 0,11 à 0,35 mg GAE / g d'échantillon séché [33]. La teneur élevée en composés phénoliques est responsable de l'activité antioxydante des écorces de *Carapa procera*, faisant accepter son utilisation comme remède ethnopharmaceutique. Les propriétés biologiques du genre *Carapa* sont principalement favorisées par la présence de composés phénoliques ainsi que des composants mineurs (par exemple le squalène et phytostérols), des composés antioxydants naturels qui jouent un rôle clé dans la prévention de l'auto-oxydation [34]. Les résultats expérimentaux ont montré que l'extrait des écorces de *Carapa procera* contient 0,04% de flavonoïdes, une valeur inférieure à celle trouvée dans les graines de *Carapa procera* (5,98 %) [31]. Aussi, des fractions aqueuses de *Khaya senegalensis*, plante de la famille des Meliaceae, contiennent 0,04 % de flavonoïdes et 0,1 %

de flavonol [35]. La teneur totale en tanins des écorces de *Carapa procera* est de 0,24 mg TAE/g de Carapa séchée. Bien que la quantité de tanins soit inférieure à celle contenue dans les écorces de *Coula edulis* [36], les écorces de carapa pourraient être une source d'antioxydants et expliquer son utilisation traditionnelle pour le traitement de la diarrhée. De plus, les écorces de *Carapa procera* pourraient agir comme agents antitumoraux en raison de la capacité des tanins à interagir avec et éteindre diverses espèces radicalaires générées dans les cellules [37]. Les écorces de *Carapa procera* contiennent 6,80% de proanthocyanidines, environ 1,4 fois plus que l'extrait d'écorce de *Schotia latifolia*, une plante africaine utilisée pour les mêmes traitements en médecine folklorique. Parmi divers rôles, les proanthocyanidines sont connues pour exercer des effets antioxydants, leur activité étant 50 fois supérieure à celle de la vitamine C et 20 fois supérieure à la vitamine E [38]. Aussi, d'autres études montrent l'activité anti-athérosclérotique et anticancéreuse des proanthocyanidines en protégeant l'organisme contre les lésions tissulaires et en améliorant la circulation sanguine [39, 40]. En conclusion, cette étude a montré la présence de différents composés phénoliques tels que les composés phénoliques, les tanins et les flavonoïdes. Ces composés sont couramment présents dans les extraits polaires tels que l'extrait hydroalcoolique et pourraient être la cause principale de son activité antiradicalaire considérable. Les quantités obtenues dans les écorces de *Carapa procera* sont 8 à 10 fois inférieures à celles présentes dans les feuilles de *Carapa procera* [41].

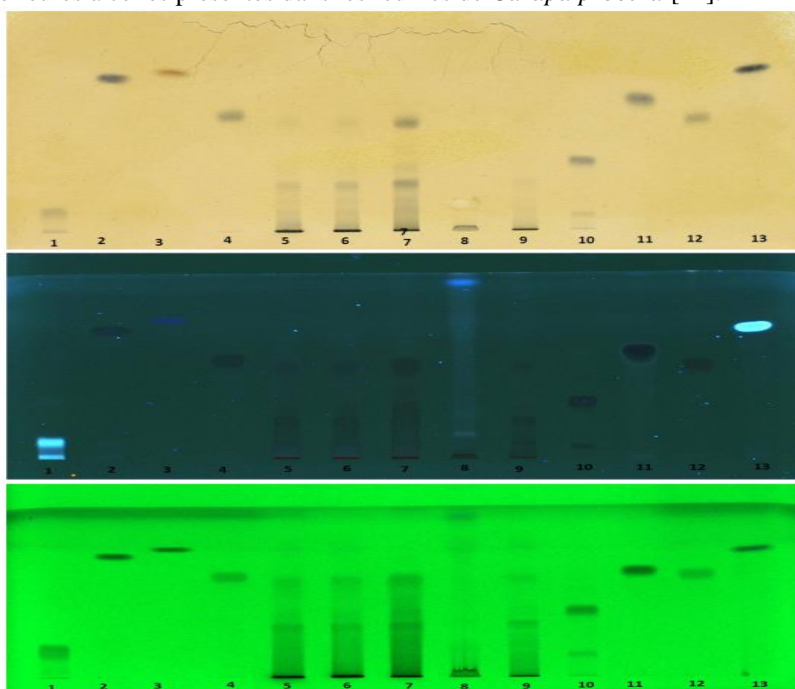


Figure 25. Chromatogrammes des extraits sur des plaques de silice F254 plates reveles avec acetate d'ethyl:acide formique : acide acetique:eau, 20:2:2:4 (v/v/v/v).Track 1: acide chlorogénique, Track2: acide 3,4-dihydroxy benzoïque, Track 3: acide trans-4-hydroxycinnamique, Track 4: (+)-catechine, Track 5: Macéré, Track 6: extrait ultrasonique MeOH/ H₂O, Track 7: extrait de tanins, Track 8: extrait de tanins purifié par CCM préparative, Track 9: extrait ultrasonique AcOEt, Track 10: Epigallocatechine, Track 11: acide gallique, Track 12: (-)-Epicatechine, Track 13: acide 3,4-dihydroxy cinnamique.

3.2. Analyse d'empreintes digitales HPTLC

Les empreintes digitales des usines chimiques identifient généralement la distribution de composés au sein d'une matrice végétale définissant son imagerie chimique par rapport à différente approche d'extraction adoptée. Dans le cas de cette étude une macération simple et des extractions par ultrasons sont appliquées pour l'extraction de composés bioactifs. Les empreintes chimiques pourraient être effectuées par différentes méthodes, capables de rapporter une représentation graphique du contenu qualitatif et quantitatif des métabolites secondaires. Les molécules cibles de cette étude sont les tanins en raison de leur forte teneur dans certains extraits. La plaque (Fig. 1) a montré de nombreux phénols dans certains extraits comme le macéré MeOH/H₂O 8/2 v/v, l'extrait par ultrasons, et l'extrait de tanins par macération et l'Extrait ultrason AcOEt. L'analyse HPTLC des extraits a montré la présence de (+)-catéchine, épicatechine, acide chlorogénique, trans-4-l'acide hydroxycinnamique et l'acide 3,4-dihydroxycinnamique (Fig. 1). Cette l'analyse montre que les écorces de *Carapa procera* contiennent différents composés phénoliques que les feuilles, dans lesquelles deux glycosides de cyanidine, quatre dérivés de quercétine, un glycoside de kaempférol et trois acides phénoliques (acide protocatéchuïque, acide caféoylquinique et acide coumaroylquinique) ont été identifiés [28]. De nombreux composés inconnus sont présent dans tous les extraits. Cette empreinte pourrait être utilisée pour l'identification de *Carapa procera* et, après optimisation, pour l'authentification de cette espèce.

3.3. Détermination in vitro de l'activité antioxydante et de l'activité pro-oxydante

L'activité antioxydante du macéré est évaluée par trois dosages différents, à savoir DPPH, ABTS et FRAP. L'activité pro-oxydante d'extrait de *Carapa procera* est dosée pour la première fois par une méthode sur la base de leur pouvoir de production d'ions fer dans la réaction de Fenton. La capacité antioxydante/pro-oxydante de cette plante est due à la contribution synergique de ses constituants, étant très importante dans l'utilisation de cette plante à des fins curatives. Le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) est un radical organique stable radical libre avec une bande d'absorption à 517 nm. Son absorption diminue lorsqu'il accepte un électron ou une espèce de radical libre, ce qui entraîne une décoloration visuellement perceptible du violet au jaune. Le macéré hydro-alcoolique d'écorces de *Carapa procera* récupère fortement le radical DPPH, son activité antioxydante étant de 10,45 mg d'équivalent vitamine C/g de Carapa séchée. Le degré élevé de décoloration indique le potentiel de Carapa pour le piégeage des radicaux libres en raison de sa capacité à donner des protons d'hydrogène, ce qui pourrait être dû à sa teneur en composés phénoliques. Cette conclusion est en accord avec les conclusions d'autres auteurs [40, 42, 43] qui attribuaient la forte activité antioxydante des plantes analysées à leur forte teneur en composés phénoliques. L'ABTS a déterminé l'activité antioxydante des deux les composés hydrophiles et lipophiles [22]. La capacité du macéré hydro-alcoolique de *Carapa procera* pour piéger le radical ABTS est déterminée et comparée à la réduction de Trolox comme échantillon témoin qui est connu comme un agent réducteur fort. La capacité antioxydante de l'extrait est de 500 mmol Trolox/g de Carapa séchée (125,15 mg de Trolox/g de Carapa séchée). L'extrait d'écorces de *C. procera* est le plus puissant antioxydant compare à l'extrait hydro-alcoolique de *K. senegalensis* qui a une capacité antioxydante de 3 mg de Trolox/g d'échantillon sec [35]. Les actions de l'extrait contre les radicaux ABTS et DPPH ont indiqué que cette plante est un bon piègeur de radicaux. Le motif de la capacité de piégeage de l'extrait dans le test ABTS est presque similaire à celui observé dans le dosage DPPH. Cependant, l'activité antioxydante déterminée par le test ABTS semble être supérieure à celle déterminée par le dosage DPPH. Ce comportement pourrait être dû au fait que le radical ABTS est plus spécifique pour les composés hydrophiles et lipophiles qui sont contenus dans le macérat hydro-alcoolique. Cette découverte invalide plusieurs opinions selon lesquelles les plantes capables de piéger le DPPH pourraient ne pas inhiber le radical ABTS [40, 42, 44]. Le pouvoir réducteur de l'extrait végétal, qui est associé à activité antioxydante, a été mesuré à l'aide du dosage du pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP). L'échantillon qui contient des composés antioxydants est capable de réduire le Fe (III) du ferricyanure de potassium en Fe (II) conduisant à un changement de couleur de la solution du jaune au vert clair. Le test FRAP a montré que la capacité réductrice des écorces de *Carapa procera* est de 2,45 mg d'équivalents vitamine C/g de Carapa séché (14 mmol vit C/g de Carapa). Cette activité antioxydante montre que les constituants phénoliques de Carapa sont de bons donneurs d'électrons, capables de terminer la réaction radicalaire en chaîne en transformant les radicaux libres en composés plus stables.

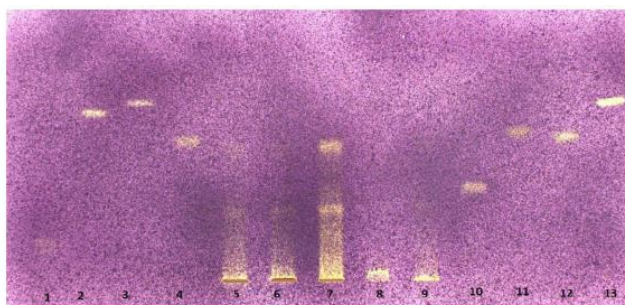


Figure 26: HPTLC - bioautographie de l'activité antioxydante sur une plaque de gel de silice F254 éluée avec de l'acétate d'éthyl:acide formique:acide acétique:eau, 20:2:2:4 (v/v/v/v) Track 1: acide chlorogénique, Track 2: acide 3,4-dihydroxydennzoïque, Track 3: acide trans-4-hydroxycinnamique, Track 4: (+)-catechine, Track 5: Macéré, Track 6: extrait ultrasonique, Track 7: extrait de tannins, Track 8: extrait de tannins purifié par CCM préparative, Track 9: extrait ultrasonique AcOEt, Track 10: Epigallocatechine, Track 11: acide gallique, Track 12: (-)-Epicatchine, Track 13: acide 3,4-dihydroxy cinnamique.

L'activité antioxydante des écorces de *Carapa procera* est plus faible que l'activité antioxydante des feuilles fraîches d'*Argyrea argentea* (150,83 mmol vit C/g d'extrait végétal) [45]. Cette étude confirme que l'activité antioxydante est bien corrélée avec la quantité de composés phénoliques présents dans l'extrait de *Carapa procera*. Contrairement à leur activité antioxydante, l'activité pro-oxydante est 24,25 mg/ml d'extrait de Carapa, prouvant que les composés phénoliques des plantes ont le potentiel d'agir comme pro-oxydants dans certaines conditions. De plus, ce résultat est en bon accord avec l'affirmation selon laquelle les plantes riches en composés phénoliques jouent un rôle crucial dans la divagation des radicaux, l'extinction de l'oxygène singulet et triplet, ou la décomposition des peroxydes [22] et confirme que les écorces de *Carapa procera* avaient la capacité d'agir comme pro-oxydants. Pro-oxydants à des concentrations faibles ou modérées, ils jouent un rôle bénéfique en agissant comme des armes pour le système de défense de l'hôte, mais lorsqu'ils sont produits ou consommés en excès, ils

deviennent des agents toxiques provoquant un stress oxydatif. Cependant, la capacité des pro-oxydants à déterminer la mort cellulaire peut présenter un grand intérêt dans le traitement du cancer (Dlamini et al., 2019) [46].

3.4. Dépistage de l'activité antioxydante

La méthode de criblage de HPTLC-bioautographie pour les constituants actifs des extraits de *Carapa* est appliquée pour l'évaluation des propriétés antioxydantes. Cette recherche est axée sur le criblage des antioxydants actifs de *Carapa procera*. Tous les extraits ont montré chacun une activité antioxydante révélée par les zones de couleur jaune apparues sur la plaque après révélation avec une solution de DPPH de couleur violette (Fig. 2). L'extrait de tanins (dépôt 7) contient plus de composés antioxydants. Cela peut conduire à la conclusion que les tanins semblent être les composés les plus responsables de l'activité antioxydante du macéré testé par les méthodes DPPH, ABTS et FRAP.

Conclusion

Dans cette étude, des classes importantes de composés phénoliques et activités antioxydantes/pro-oxydantes de l'extrait hydro-alcoolique des écorces de *Carapa procera* sont déterminées, justifiant par des preuves scientifiques son utilisation thérapeutique en ethnomédecine. Cette plante pourrait servir de source potentielle d'antioxydants naturels contre le stress, qui est souvent associé aux maladies neurodégénératives et des dommages biologiques dans les tissus vivants. En outre, la capacité des écorces de *Carapa procera* à agir à la fois comme antioxydants et pro-oxydants suggère un large spectre d'action pour traiter différentes maladies. De plus, on peut conclure que cette plante pourrait servir à isoler de nouvelles molécules actives contre de nombreuses pathologies. Par conséquent, d'autres investigations sont nécessaires pour isoler les principes actifs et d'évaluer leurs propriétés pharmacologiques.

Références

- [1] Gundgaard, J., Lauridsen, J., 2006. A decomposition of income-related health inequality applied to EQ-5D. *The European Journal of Health Economics* 7 (4), 231–237.
- [2] Garcia-Iniguez-de-Ciriano, M., García-Herreros, C., Larequi, E., Valencia, I., Ansorena, D., ~ Astiasar an, I., 2009. Use of natural antioxidants from lyophilized water extracts of *Borago officinalis* in dry fermented sausages enriched in v-3 PUFA. *Meat Science* 83 (2), 271–277.
- [3] Cimpoi, C., 2006. Analysis of some natural antioxidants by thin-layer chromatography and high-performance thin-layer chromatography. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies* 29 (78), 1125–1142.
- [4] Rahal, A., Kumar, A., Singh, V., Yadav, B., Tiwari, R., Chakraborty, S., Dhama, K., 2014. Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. *BioMed Research International* 2014, 1–19.
- [5] Duarte, T.L., Lunec, J., 2005. When is an antioxidant not an antioxidant? A review of novel actions and reactions of vitamin C. *Free Radical Research* 39 (7), 671–686.
- [6] Berhaut, J., 1988. *Flore Illustrée Du Senegal*, Gouvernement du Senegal, Ministère du Développement Rural. Direction des eau et forêts, Dakar.
- [7] Mulholland, D.A., Parel, B., Coombes, P.H., 2000. The chemistry of the Meliaceae and ptaeroxylaceae of southern and eastern Africa and Madagascar. *Current Organic Chemistry* 4 (10), 1011–1054.
- [8] Dioum, M.D., Seck, M., Silvestre, V., Planchat, A., Loquet, D., Lohard, S., Barille-Nion, S., Remaud, G.S., Robins, R.J., Tea, I., 2016. A ring-d-Seco-tetranortriterpenoid from seeds of *Carapa procera* active against breast cancer cell lines. *Planta Medica* 82 (11/12), 967–972.
- [9] Djenontin, T.S., Avlessi, F., Lozano, P., Sohounhloue, D.K.C., Pioch, D., 2012. Composition of *Azadirachta indica* and *Carapa procera* (Meliaceae) seed oils and cakes obtained after oil extraction. *Industrial Crops and Products* 38 (7), 39–45.
- [10] Ambrozin, A.R.P., Leite, A.C., Bueno, F.C., Vieira, P.C., Fernandes, J.B., Bueno, O.C., da Silva, M.F., Pagnocca, F.C., Hebling, M.J.A., Bacci, Jr., M., 2006. Limonoids from andiroba oil and *Cedrela fissilis* and their insecticidal activity. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 17 (3), 542–547.
- [11] Ferraris, F.K., Rodrigues, da Silva, R., Figueiredo, V.P., Penido, R., Henriquez, C., Md, 2011. Modulation of T lymphocyte and eosinophil functions in vitro by natural tetranortriterpenoids isolated from *Carapa guianensis* Aublet. *International Immunopharmacology* 11 (1), 1–11.
- [12] Park, S.E., Pak, G.D., Aaby, P., Adu-Sarkodie, Y., Ali, M., Aseffa, A., Biggs, H.M., Bjerregaard-Andersen, M., Breiman, R.F., Crump, J.A., Cruz Espinoza, L.M., Eltayeb, M.A., Gasmelseed, N., Hertz, J.T., Im, J., Jaeger, A., Parfait Kabore, L., von Kalckreuth, V., Keddy, K.H., Konings, F., Krumkamp, R., MacLennan, C.A., Meyer, C.G., Montgomery, J.M., Ahmet Niang, A., Nichols, C., Olack, B., Panzner, U., Park, J.K., Rabezanahary, H., Rakotozandrindrainy, R., Sampo, E., Sarpong, N., Schutt-Gerowitt, H., Sooka, A., Soura, A.B., Sow, A.G., Tall, A., Teferi, M., Yeshitela, B., May, J., Wierzba, T.F., Clemens, J.D., Baker, S., Marks, F., 2016. The relationship between invasive nontyphoidal Salmonella disease, other bacterial bloodstream infections, and malaria in sub-Saharan Africa. *Clinical Infectious Diseases* 62 (Suppl1), S23–S31.
- [13] Sarpong, L.M., Sarpong, F.M., Amponsah, I.K., 2016. Antiplasmodial activity of the leaves and stem bark of *Carapa procera* and *Alstonia boonei*. *Der Pharmacia Lettre* 8 (3), 116–122.
- [14] Zhang, S.Y., Zheng, C.G., Yan, X.Y., Tian, W.X., 2008. A low concentration of condensed tannins from catechu significantly inhibits fatty acid synthase and the growth of MCF-7 cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 371 (4), 654–658.

- [15] Nabi, N.G., Shrivastava, M., 2017. Phytochemical screening and antioxidant activity of ethanol extract of *Psoralea Corylifolia* seeds. *UK Journal of Pharmaceutical and Biosciences* 5 (2), 01–07.
- [16] Hosu, A., Cristea, V.M., Cimpoiu, C., 2014. Analysis of total phenolic, flavonoids, anthocyanins and tannins content in Romanian red wines: prediction of antioxidant activities and classification of wines using artificial neural networks. *Food Chemistry* 150 (5), 113–118.
- [17] Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology* 299, 152–178.
- [18] Portet, L., Hrstich, L.N., Chan, B.G., 1986. The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyaniding and delphinidin. *Phytochemistry* 25 (1), 223–230.
- [19] Alilou, H., Bencharki, B., Hassani, L.M.I., Barka, N., 2014. Screening phytochimique et identification spectroscopique des flavonoïdes d'*Asteriscusgraveolens* subsp. *odorus*. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie* 10 (3), 316–328.
- [20] Hosu, A., Danciu, V., Cimpoiu, C., 2015. Validated HPTLC fingerprinting and antioxidant activity evaluation of twenty-seven Romanian red wines. *Journal of Food Composition and Analysis* 41 (8), 174–180.
- [21] SanchezMoreno, C., Larrauri, J.A., Saura-Calixto, F., 1998. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 76 (2), 270–276.
- [22] Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* 26 (9-10), 1231–1237.
- [23] Cimpoiu, C., Cristea, V.M., Hosu, A., Sandru, M., Seserman, L., 2011. Antioxidant activity prediction and classification of some teas using artificial neural networks. *Food Chemistry* 127 (3), 1323–1328.
- [24] Benzie, I.F., Strain, J.J., 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry* 239 (1), 70–76.
- [25] Moldovan, B., Hosu, A., David, L., Cimpoiu, C., 2016. Total phenolics, anthocyanins, antioxidant and pro-oxidant activity of some red fruits teas. *Acta Chimica Slovenica* 63 (2), 213–219.
- [26] Aguru, C.U., Bashayi, C.G., Ogbonna, I.O., 2017. Phytochemical profile of stem bark extracts of *Khaya senegalensis* by Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GCMS) analysis. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy* 9 (3), 35–43.
- [27] Okwu, D.E., 2004. Phytochemicals and vitamins content of indigenous spices of South Eastern Nigeria. *Journal of Sustainable Agriculture and Environment* 6 (1), 30–34.
- [28] Adje, F.A., Kof fi, E.N., Kone, K.Y., Meudec, E., Adima, A.A., Lozano, P.R., Lozano, Y.F., Gaydou, E.M., 2019. Polyphenol characterization in red beverages of *Carapa procera* (D.C.). *Leaf Extracts Beverages* 5, 68. <https://doi.org/10.3390/beverages5040068>.
- [29] Marvit, O.W.A., Ayat, A.A., Altayeb, S.E., 2018. Phytochemical screening, chemical composition and antioxidant activity of leaves and bark extract from *Khaya senegalensis*. *Advances in Biochemistry* 6 (4), 32–38.
- [30] Basile, A., Ferrara, L., Del Pezzo, M., Mele, G., Sorbo, S., Bassi, P., Montesano, D., 2005. Antibacterial and antioxidant activities of ethanol extract from *Paullinia cupana* Mart. *Journal of Ethnopharmacology* 102 (1), 32–36.
- [31] Bienvenu, M.J., Marcel, A., 2014. Evaluation of proximate, mineral and phytochemical compositions of *Carapa procera* (family Meliaceae). *Pakistan Journal of Nutrition* 13 (6), 359–365.
- [32] Diby, L.A., Katou, S.Y., Dere, L.A.K., N'da, P.K., Tiadou, G.G., 2019. Biochemical composition of the seed of *Carapa procera* (Meliaceae) of Cote d'Ivoire. *International Journal of Green and Herbal Chemistry* 8 (3), 333–342.
- [33] Novello, Z., Scapinello, J., Dal Magro, J., Zin, G., Di Luccio, M., Tres, M.V., Oliveira, J.V., 2015. Extraction, chemical characterization and antioxidant activity of andiroba seeds oil obtained from pressurized n-butane. *Industrial Crops and Products* 76 (12), 697–701.
- [34] Baccouri, O., Guerfel, M., Baccouri, B., Cerretani, L., Bendini, A., Lercker, G., Zarrouk, M., Miled, D.D.B., 2008. Chemical composition and oxidative stability of Tunisian monovarietal virgin olive oils with regard to fruit ripening. *Food Chemistry* 109 (4), 743–754.
- [35] Marius, L., Traore, R., Ouedraogo, N., Kini, F., Tibiri, A., Duez, P., Guissou, I.P., 2016. In vitro antioxidant activity and phenolic contents of different fractions of ethanolic extract from *Khaya senegalensis* A. Juss. (Meliaceae) stem barks. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 10 (23), 501–507.
- [36] Obiang, C.S., Ondo, J.-P., Atome, G.-R.N., Engonga, L.-C.O., Siawaya, J.-F.D., Emvo, E.N., 2016. Phytochemical screening, antioxidant and antimicrobial potential of stem barks of *Coula edulis* Baill. *Pseudospondias longifolia* Engl. and *Carapa klaineana* Pierre. from Gabon. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* 6 (7), 557–563.
- [37] Yildirim, I., Kutlu, T., 2015. Anticancer agents: saponin and tannin. *International Journal of Biological Chemistry* 9 (6), 332–340.
- [38] Majo, D.D., La Guardia, M., Giammance, S., La Neve, L., Giammanco, M., 2008. The antioxidant capacity of red wine in relationship with its polyphenolic constituents. *Food Chemistry* 111 (1), 45–49.
- [39] Yamakoshi, J., Kataoka, S., Koga, T., Ariga, T., 1999. Proanthocyanidin-rich extract from grape seeds attenuates the development of aortic atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis* 142 (1), 139–149.
- [40] Mbaebie, B.O., Edeoga, H.O., Afolayan, A.J., 2012. Phytochemical analysis and antioxidant activities of aqueous stem bark extract of *Schotia latifolia* Jacq. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2, e 2 (2), 118–124.
- [41] Gbohaida, V., Agbangnan, D.C.P., Nonviho, G., Gnansounou, M., Bothon, F.T.D., Bogninou, G.S.R., Avlessi, F., Sohounhloue, C.K.D., 2016. Chemical study and evaluation of the influence of two physical parameters on polyphenols extraction from *Carapa procera* leaves. *World Journal of Pharmaceutical Research* 5 (12), 108–119.
- [42] Igbinsosa, O.O., Igbinsosa, H.I., Chigor, V.N., Uzunugbe, O.E., Oyedemi, S.O., Odjadjare, E.E., 2011. Polyphenolic contents and antioxidant potential of stem bark extracts from *Jatropha curcas* (Linn). *International Journal of Molecular Sciences* 12, 2958–2971.

Synthèse stéréosélective organocatalysée des stéréotriades contenant le motif 1,3-diol

Diallo Ibrahima^{1*}, Mbow Bédié^{2*}, Diop Birane³, Fofana Mouhamadou⁴, Bressy Cyril⁵

^{1,2,3,4} Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Fann, Dakar, B.P.5005, Sénégal

⁵ Institut des sciences moléculaire de Marseille, les Lilas, Marseille, France

*Correspondance, courriel: ibrahima22211@yahoo.fr / bedie.mbow@ucad.edu.sn

Résumé: Les molécules organiques naturelles sont généralement chirales. Les différences de propriétés biologiques entre deux énantiomères peuvent aussi être anodines que dramatiques. La législation impose actuellement un excès énantiomérique d'au moins 98 % pour tout médicament commercialisé comme un seul énantiomère[1]. Les polyols sont des composés qui comportent plusieurs groupes hydroxylés, portés par des carbones différents. Très présents dans la nature, ils sont considérés comme dérivant de la réduction du groupe carbonyle d'aldoses ou de cétooses.[2] Ils sont largement utilisés dans l'industrie pour la fabrication des polymères de types polyesters ou polyuréthanes, comme additifs dans les industries alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques. Notre objectif est de synthétiser des stéréotriades par acylation énantiosélective organocatalysée des diols. En effet, ce motif est utilisé comme ligand chiral lors de l'oxydation d'un sulfure en sulfoxyde.[3] En se basant sur des travaux antérieurs[4],[5] nous avons effectué le double dédoublement cinétique des β -diols pseudo-symétriques ou asymétriques. D'importants résultats ont été obtenus avec des puretés optiques excellentes ($re > 99,9$), des diols recouverts et des rendements très bons. La pureté optique des diesters obtenus varie de modéré à excellent ($re = 62 : 38$ à $99 : 1$).

Les conditions optimales de la réaction ont été déterminées en faisant varier l'agent d'acylation, le catalyseur puis le solvant, la discrimination des groupes hydroxyles par monoacylation organocatalysée des β -diols C2-pseudo symétriques a été réalisée. Huit molécules ont été synthétisées par la méthode avec une diastéréosélectivité allant de 97 :3 à 100 :0 et des rendements modérés de 12% à 60%.

Au cours de ce travail d'importants résultats ont été obtenus avec la mise en place d'une méthode stéréosélective de synthèse de stéréotriades. Pour la suite de nos travaux nous envisageons la synthèse des 1,3-diols (1,2-anti/2,3-anti), leur désymétrisation et leur double dédoublement cinétique.

Mots clés : Stéréosélective, stéréotriades, organocatalysée, 1,3-diols

Abstract: Natural organic molecules are generally chiral. Different biological properties between two enantiomers can be as trivial as they are dramatic. Legislation currently imposes an enantiomeric excess of at least 98% for any drug marketed as a single enantiomer [1]. Polyols are compounds that have several hydroxyl groups, carried by different carbons. Omnipresent in nature, they are considered to derive from the reduction of the carbonyl group of aldoses or ketoses [2]. They are widely used in the industry for the manufacture of polyester or polyurethane type polymers, as additives aid of food, cosmetics, and pharmaceutical industries.

Our objective is to synthesize stereotriads by organocatalyzed enantioselective acylation of diols. Indeed, this motif is used as a chiral ligand during the oxidation of sulfide to a sulfoxide [3]. Based on previous work [4],[5] we performed the double kinetic resolution of pseudo-symmetric or asymmetric β -diols. Significant results were obtained with excellent optical purities ($re > 99.9$) of the recovered diols and very good yields, the optical purity of the diesters produced varies from moderate to excellent ($re = 62 : 38$ to $99 : 1$).

After determining the optimal reaction conditions, first by varying the acylation agent, then the catalyst, and then the solvent, discrimination of hydroxyl groups by organocatalyzed monoacylation of C2-pseudosymmetric β -diols has been achieved. Eight molecules were synthesized by the method with diastereoselectivity ranging from 97:3 to 100:0 and moderate to good yields (12% to 60%).

During this work, important results were obtained with the implementation of a stereoselective method for the synthesis of stereotriades. For the continuation of our work, we envisage the synthesis of 1,3-diols (1,2-anti/2,3-anti), their desymmetrization, and their double kinetic splitting.

Keywords: Stereoselective, stereotriades, organocatalyzed, 1,3-diols

1. Introduction

Une des préoccupations majeures des chimistes est le contrôle de la stéréochimie des molécules lors de leur synthèse, d'autant plus que deux stéréo-isomères présentent généralement des activités différentes. Plus une molécule contient de centre asymétrique, plus sa synthèse est difficile à réaliser. Les stéréo-n-triades sont des molécules contenant n carbones asymétriques adjacents où n désigne le nombre de carbone stéréogéniques dans la molécule. Généralement les centres stéréogènes sont responsables des

activités biologiques des molécules. Plusieurs méthodes ont été développées pour la synthèse des stéréo-n-triades. Le terme stéréotriade désigne les molécules ayant trois centres stéréogènes adjacents, les stéréotriades contenant le motif 1,3-oxygéné sont très fréquents dans la nature et ils possèdent d'importantes propriétés biologiques. Le motif 1,3-diol est un fragment omniprésent dans plusieurs composés bioactifs comme les poly propionates naturels. Donc la préparation de ces types de fragments est d'une importance capitale, exceptionnellement si le groupe fonctionnel se trouve dans une position appropriée en vue de compléter la synthèse totale des molécules cibles.[6] Malgré les diverses méthodes utilisées pour la synthèse de ces fragments, la voie aldolisation/réduction demeure la plus utilisée. Par contre, il existe d'autres méthodes comme la réaction aldol-Tishchenko, l'oxymercuration des cyclopropylcarbinols, la photo-oxygénation des 1-méthyl-2,3 diarylcyclopropanes suivie d'une hydrogénation catalysée par le palladium sur carbone (Pd/C). On peut aussi citer l'hydrogénation asymétrique des dicarbonylés,[7] l'alkylation et l'allyltitanation catalysées des β -hydroxy aldéhydes[2].

2. Matériel et méthodes

Les réactions ont été effectuées sous atmosphère argon et la verrerie lavée avec de l'acétone puis séchée au four.

Les réactions sont suivies par chromatographie sur couche mince qui a été réalisée sur des plaques d'aluminium de gel de silice 60 F254 (Macherey-Nagel) la chromatographie sur colonne a été effectuée en utilisant le gel de silice (35-70 Å)

Les solvants ont été utilisés comme reçus, sauf l'acétone qui a été distillé sous tamis moléculaire (TM). Les réactifs commerciaux ont été utilisés tels qu'ils ont été reçus.

Les structures des composés obtenus sont identifiées en solution dans $CDCl_3$ ($\delta=7,26$ ppm), le TMS servant comme référence interne, par résonance magnétique nucléaire RMN ^{13}C et RMN 1H sur appareil Bruker AV 300 (300MHz) ou AV 400 (400MHz).

Les spectres de masse à haute résolution (HRMS) ont été enregistrés sur un appareil HDMS De Synapt G2 d'Eau utilisant une source d'ionisation positive électroébuliseur (ESI). Les excès énantiomériques ont été déterminés par HPLC.

3. Résultats et discussions

3.1. Synthèse des composés 1,3-diols racémiques

➤ Par la méthode de Barluanga (double réduction diastéréosélective de dicétones)

Le mélange de 4 équivalents de $LiAlH_4$ et de 12 équivalents du *tert*-butanol entraîne la formation in situ de l'hydruure permettant la réduction des groupements carbonyles.

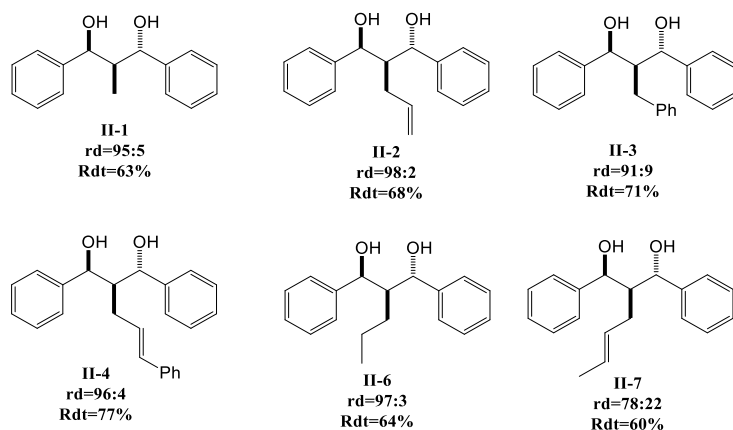
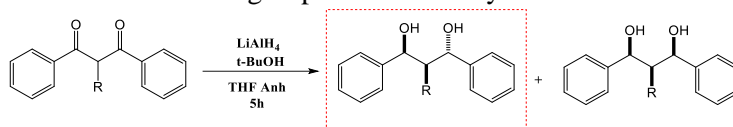


Figure 27: diols racémiques obtenus par la double réduction des dicétones (méthode de Barluanga)

En appliquant la méthode nous avons pu réduire nos substrats avec succès, les diols sont obtenus avec une très bonne sélectivité pour les molécules **II-1**, **II-2**, **II-3**, **II-4**, **II-5** et **II-6**. On note une diminution de la pureté du diol **II-7** (**78 :22 dr**) qui est peut-être due à la coexistence des deux stéréoisomères **Z** et **E** du fait de la petitesse du groupement méthyle. Les rendements sont globalement bons.

➤ **Par la méthode des aldols Tishchenko**

En s'inspirant des travaux de Bodnar et Marwal[8], nous avons synthétisé les composés ci-dessous avec de très bonnes sélectivités sauf pour les cas où l'aldéhyde est un dérivé du furfural (**II-12** ; 58 :42 rd et **II-13** ; 75 :25 rd). Les rendements vont de modérés à bons sauf pour **II-12** et **II-13** où on note des rendements faibles. Un groupement méthyle sur le noyau furfural permet d'améliorer la sélectivité.

En appliquant cette méthode nous avons synthétisé différentes molécules C2-pseudo symétriques et des molécules asymétriques. La réaction tolère bien des substituants aussi bien électroattracteurs qu'électrodonneurs sur le noyau aromatique. Un noyau hétéroaromatique tel que le furfural entraîne une diminution de la sélectivité et un ralentissement de la réaction.

L'intérêt de cette méthode est qu'elle s'effectue sans étapes intermédiaires, autrement dit pas d'isolement de produit après la première étape, on passe directement à la saponification pour accéder au 1,3-diol en anti. Dans notre travail le diisopropylamine lithium (LDA) a été préparé *in situ* en mélangeant du diisopropylamine et du n-Butyle lithium à 0°C.

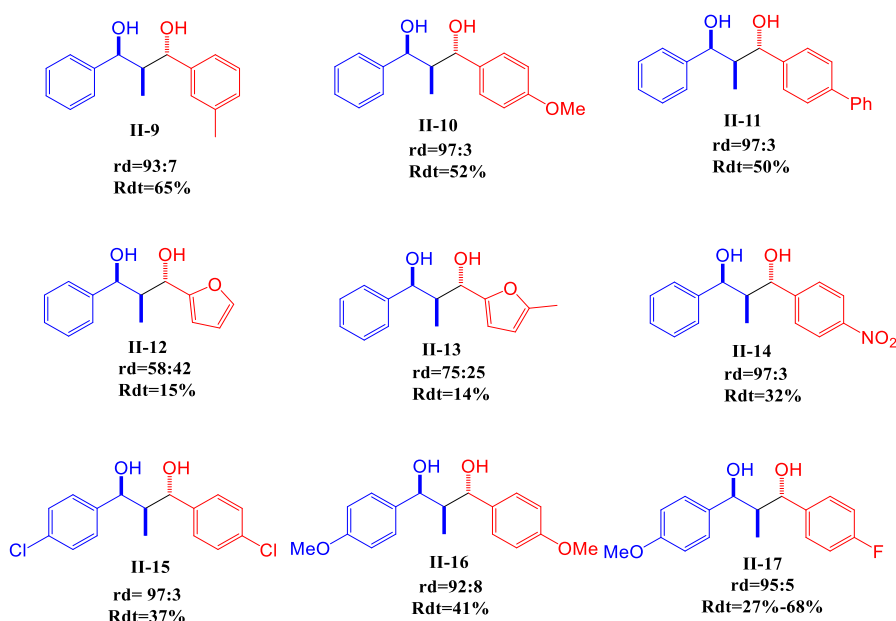
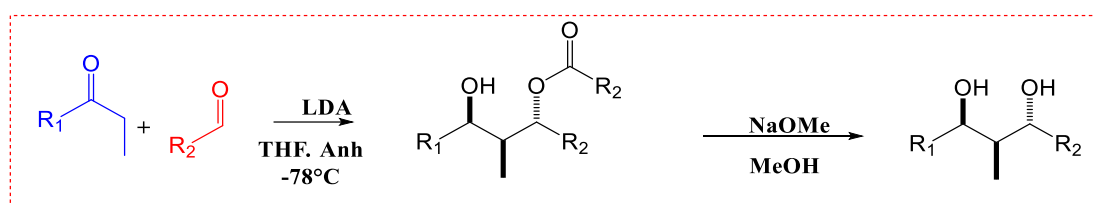


Figure 28: les aldols de Tishchenko obtenus sous forme racémique

3.2. Double dédoublement cinétique des beta-diols racémiques

Le dédoublement est une méthode très connue et efficace pour séparer des énantiomères. Il consiste généralement à transformer, par une réaction en présence d'un catalyseur chiral, l'un des énantiomères du mélange racémique en une autre molécule séparable à l'autre énantiomère qui n'a pas réagi sans impacter la stéréochimie. Selon la stéréochimie du catalyseur un des énantiomères va réagir favorablement.

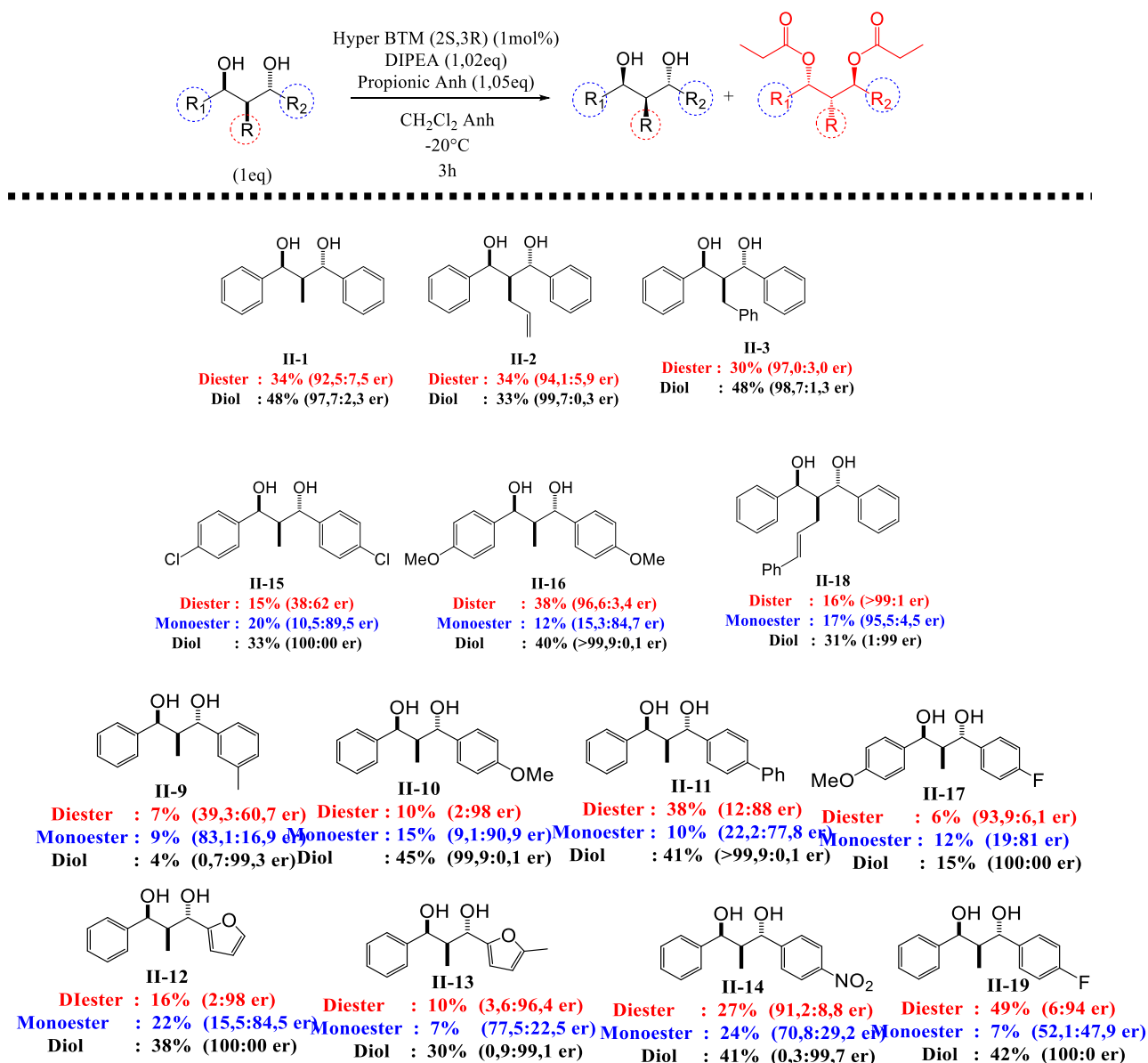


Figure 29: Résultats du double dédoublement cinétique des 1,3-diols

La pureté optique des monoesters a été déterminée après leur saponification en diol correspondant avec du carbonate de potassium dans le méthanol (MeOH).

Globalement on note une excellente pureté optique du diol recouvré (de **0,7 :99,3 re** à **100 :00 re**), dans tous les cas que ce soit avec les molécules C2-pseudo symétriques ou non. Ce résultat confirme les résultats obtenus par Titouan. Le diol est souvent recouvré avec de bon rendement.

La pureté optique du diester produit est souvent moins bonne que celle du diol recouvré. Nos résultats montrent qu'un groupement électroattracteur sur le noyau aromatique entraîne une diminution de la pureté optique du diester, pour un groupement nitro **II-14** et un fluor **II-17** on obtient successivement (**91,2 :8,8 re** et **93,89 :6,11 re**). Une diminution drastique de la pureté optique du diester (**38 :62 re**) est aussi notée dans le cas des molécules C2-pseudo symétriques ou le noyau aromatique porte un chlore en position para **II-15**. Une comparaison des résultats obtenus entre **II-16** et **II-17** nous permet de dire que la présence du fluor sur l'un des noyaux aromatiques entraîne une légère diminution de la pureté optique du diester et même celle du monoester.

La pureté optique du diester obtenue quand l'un des noyaux aromatiques porte un groupement méthyle en position méta (**39,27 :60,73 re ; II-9**) est pratiquement la même que celle obtenue dans le cas d'une molécule pseudo symétrique avec des chlores en position para **II-15**.

3.3. Accès à des stéréotriades par discrimination des groupements hydroxyles des composés C2-pseudosymétriques

➤ Optimisation des conditions

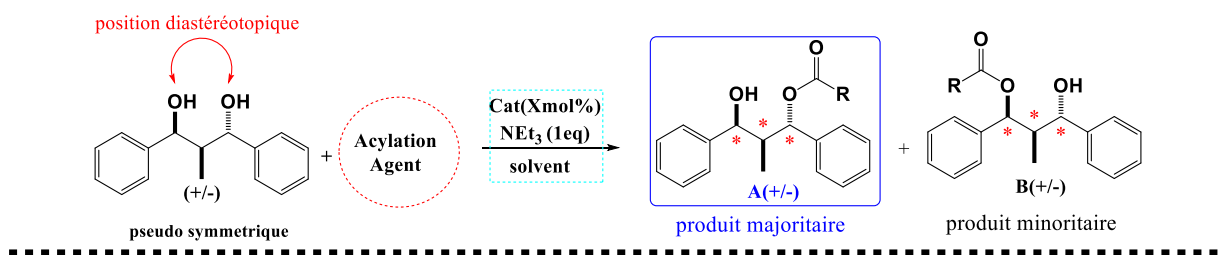


Tableau 19: Résultats de l'optimisation des conditions de la réaction

Entrée	Agent d'acylation (1,5éq)	Rendement isolé (%)			rd A : B	Cat (20mol%)	Solvant
		Monoester	Diester	Diol			
1	Acetic Anh	60	1	38	89 :11	DMAP	DCM
2	Propionic Anh	65	0	0	90 :10	-	-
3	Isobutyric Anh	13	-	23	80 :20	-	-
4	Benzoic Anh	42	-	22	87 :13	-	-
5	Benzoyl chloride	21	-	28	65 :35	-	-
6	Pivaloyl chloride	7	-	44	40 :60	-	-
7	Propionic anh	4	-	42	60 :40	Sans	-
8	Acetic Anh	52	3	40	83 :17	PPY	-
9	-	54	-	33	82 :18	9-AJU	-
10	-	54	-	8	92 :8	DHPB	-
11	-	84	10	5	92 :8	-	THF
12	-	57	42	0	100 :0	-	Toluène
13	-	56	43	-	-	-	Et ₂ O
14	-	55	44	-	-	-	t-AmOH
15	-	52	47	-	-	--	AcOEt
16	1.2éq	(77)	(23)	(0)	-	-	-
17	1.1éq	(80)	(20)	(0)	-	-	-
18	1éq	(87)	(11)	(2)	97 :3	-	-
19	-	(86)	(7)	(7)	98 :2	15	-
20	-	(87)	(10)	(3)	-	10	-
21	-	(86)	(11)	(3)	-	5	-
22	1.1éq	(80)	(20)	(0)	100 :0	5	AcOEt

Pour optimiser les conditions de l'expérience, nous avons utilisé différents agents d'acylation tels que les anhydrides acides et les chlorures d'acyles. Les résultats ont montré que les anhydrides sont plus performants en termes de sélectivité et de conversion que les chlorures d'acides.

On peut associer la différence de conversion à l'effet des contre ions en supposant que le Cl⁻ déplace la réaction dans le sens inverse alors que le contre ion carboxylate favorise la réaction dans le sens souhaité. Les résultats obtenus avec les anhydrides les moins encombrés sont plus satisfaisants (anhydride acétique et propionique : rd=90 :10, entrée 1 et 2).

En réalisant la réaction sans catalyseur avec l'anhydride propionique comme agent d'acylation, on observe une diminution remarquable de la sélectivité de (90 :10 rd, entrée 2) à (60 :40 rd, entrée 7) avec une très faible conversion du diol (7%). Ce qui signifie que le catalyseur est indispensable pour une meilleure sélectivité et un temps de réaction raisonnable.

En faisant varier le catalyseur on note une légère différence de sélectivité entre PPY (83 :17 rd, entrée 8) et 9-AJU (82 :18 rd, entrée 9). On obtient une meilleure sélectivité avec les catalyseurs d'Okamoto (**DHPB**, 92 :08 rd, entrée 10) et celui de **Benchmark** (**DMAP**, 89 :11 rd, entrée 1).

La simplicité de la synthèse du catalyseur d'Okamoto (DHPB)[9] combiné de son efficacité notée dans cette réaction nous a poussé à l'utiliser pour la suite du travail.

En évaluant l'effet du solvant sur la sélectivité, on obtient une excellente sélectivité (100 :00 rd, entrée 12 à 15) respectivement dans le toluène, éther de diéyle, ter-amyle et l'acétate d'éthyle contre une bonne sélectivité dans le tétrahydrofurane et dans le dichlorométhane respectivement (92 :8 rd, entrée 10 et 11).

En utilisant 1.1 eq (entrée 17) d'anhydride acétique et 20mol% de DHPB, on obtient une bonne conversion du diol en monoester (80%) avec une faible quantité de diester (20%). Nous avons aussi montré que la diminution de la quantité du DHPB (de 20mol% à 5mol%) ne modifie ni la sélectivité ni la durée de la réaction encore moins la conversion du diol.

Les conditions les plus optimales sont l'utilisation de 1eq de diol et 1.1eq d'anhydride acétique en présence de 5mol% de DHPB dans l'acétate d'éthyle (entrée 22)

➤ Scope de la réaction

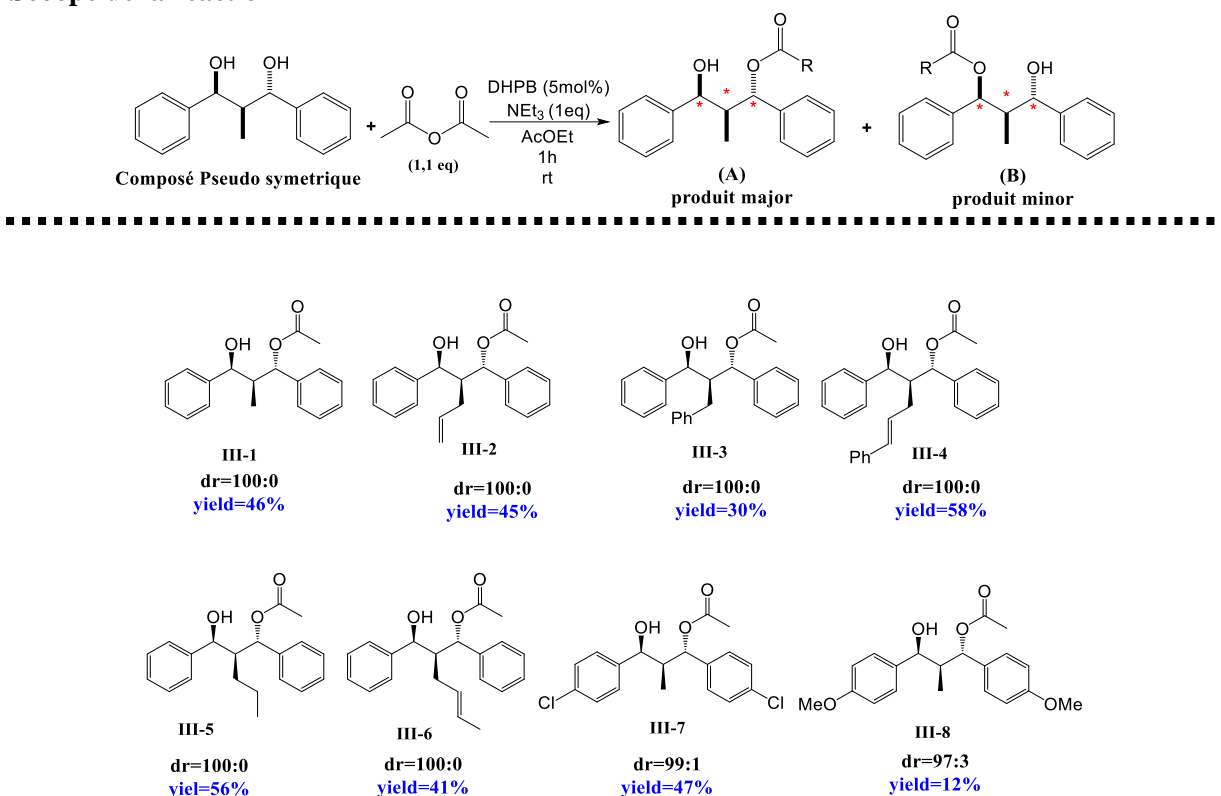


Figure 30: Résultats du scope de la réaction de discrimination des groupement hydroxyls

Les résultats obtenus montrent un bon ratio monoester-diester allant de (70 :30, III-3) au (86 :14, III-1). Les rendements du monoester varient entre 30% et 60 %. Avec une excellente sélectivité (un seul diastéréomère formé sauf pour les deux derniers cas) et un temps de réaction court (1h). Par compte on récupère souvent du diester et on note aussi une séparation très difficile entre le monoester et le diester dans certains cas.

Le substituant en position 2 des hydroxyles n'influence aucunement la sélectivité de la réaction. Un substituant sur les noyaux aromatiques comme le chlore (Cl) ou un méthoxy- entraîne une légère diminution de la sélectivité de la réaction (III-7 et III-8).

4. Conclusion

Nous avons synthétisé avec succès plusieurs diols en utilisant des méthodes de synthèse telles que la double réduction des dicétones et les aldols de Fiesher. Ces deux méthodes sont très simples et faciles à mettre en place. Le double dédoublement cinétique des diols ont été effectués tout en évaluant l'influence des différents paramètres lors du dédoublement, d'excellents résultats y sont dégagés. La dernière partie consistait à effectuer une discrimination des groupements hydroxyles des diols C2-pseudo

symétrique pour obtenir des molécules asymétriques en utilisant un catalyseur organique achirale facilement accessible.

- [1] H. Kagan, « La synthèse asymétrique de composés biologiquement actifs », *Actual. Chim.*, n° 11/12, p. 10-14, 2003.
- [2] S. E. Bode, M. Wolberg, et M. Mueller, « Stereoselective synthesis of 1, 3-diols », *Synthesis*, vol. 2006, n° 04, p. 557-588, 2006.
- [3] P. Gogoi, T. Kotipalli, K. Indukuri, S. Bondalapati, P. Saha, et A. K. Saikia, « Application of a novel 1,3-diol with a benzyl backbone as chiral ligand for asymmetric oxidation of sulfides to sulfoxides », *Tetrahedron Lett.*, vol. 53, n° 22, p. 2726-2729, mai 2012, doi: 10.1016/j.tetlet.2012.03.077.
- [4] J. Merad *et al.*, « Double Catalytic Kinetic Resolution (DoCKR) of Acyclic *anti* -1,3-Diols: The Additive Horeau Amplification », *Angew. Chem. Int. Ed.*, vol. 56, n° 50, p. 16052-16056, déc. 2017, doi: 10.1002/anie.201709844.
- [5] J. Mérad, M. Candy, J.-M. Pons, et C. Bressy, « Catalytic enantioselective desymmetrization of meso compounds in total synthesis of natural products: towards an economy of chiral reagents », *Synthesis*, vol. 49, n° 09, p. 1938-1954, 2017.
- [6] J. Petriguet, T. Roisnel, et R. Grée, « Stereoselective synthesis of functionalized 1, 3 diols through the tandem isomerization–aldolization reaction mediated by nickel catalysts », *Tetrahedron Lett.*, vol. 47, n° 44, p. 7745-7748, 2006.
- [7] D. Enders et M. Voith, « Asymmetric Synthesis of Pseudo C₂-Symmetric 2-Methyl Substituted 1, 3-Diols », *Synlett*, vol. 2002, n° 01, p. 0029-0032, 2002.
- [8] P. M. Bodnar, J. T. Shaw, et K. A. Woerpel, « Tandem Aldol- Tishchenko Reactions of Lithium Enolates: A Highly Stereoselective Method for Diol and Triol Synthesis », *J. Org. Chem.*, vol. 62, n° 17, p. 5674-5675, 1997.
- [9] V. B. Birman, X. Li, et Z. Han, « Nonaromatic amidine derivatives as acylation catalysts », *Org. Lett.*, vol. 9, n° 1, p. 37-40, 2007.

Essai de formulation d'un complément alimentaire à base d'extraits secs des calices de fleurs de *Hibiscus sabdariffa*

Ousséni Sawadogo¹, Hermine Zime⁴, Sidonie Zongo⁴, Adama Hema¹, Remy K. Bationo^{1,3}, Moumouni Koala^{1,2}, Constantin M. Dabiré¹, Rasmene Semde⁴, Eloi Palé^{1*} et Mouhoussine Nacro¹

¹Laboratoire de Chimie Organique et de Physique Appliquées (L.C.O.P.A.), Université Joseph KI-ZERBO, UFR/SEA, Département de Chimie 03 BP 7021 Ouagadougou 03 Burkina Faso.

²Institut de Recherche en Sciences de la Santé, Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique (IRSS/CNRST), 03 BP 7047 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

³CNRST/IRSAT/ Département Substances Naturelles, 03 BP 7047 Ouagadougou 03 Burkina Faso

⁴Laboratoire du développement du médicament, Département des sciences pharmaceutiques Appliquées, UFR/SDS, Université Joseph KI-ZERBO

*Auteur correspondant : eloipale@yahoo.fr

Résumé

L'utilisation des aliments sous des formules pharmaceutiques tout en préservant leurs propriétés chimiques, biologiques et biochimiques, devient une préoccupation majeure pour certains acteurs.

Le travail réalisé est donc une contribution à l'essai de formulation d'un complément alimentaire à base d'extraits secs de *Hibiscus sabdariffa* source potentielle d'antioxydant. L'analyse quantitative basée sur la détermination des teneurs en anthocyanes totales (TAT), en composés phénoliques (TCP) totaux et en antioxydants (TAO) par la méthode DPPH a présenté les valeurs respectivement de 83,9±0,15 mg équivalents de cyanidine 3-glucoside/g d'extrait sec, 261,23±10,38mg EAG/g d'extrait sec et 101,74±0,74mg ET/g d'extraits sec. La détermination de l'activité antiradicalaire a montré que l'extrait purifié de *H. sabdariffa* est actif (IC₅₀ faible) mais reste moins actif que le Trolox utilisé comme référence. Des essais de formulation des différents extraits anthocyaniques sont réalisés et l'aptitude à l'écoulement de chaque extrait est évaluée en déterminant les indices de compressibilités et de Hausner. Une analyse quantitative des gélules après formulation a montré que les teneurs en anthocyanes totales en composés phénoliques et en antioxydants présentent une différence non significative. Cela suggère que l'utilisation de l'excipient ne présente pas des effets de dégradations majeures des substances actives des extraits.

Mots clés : *Hibiscus sabdariffa*, Anthocyanes, Activités anti-radicalaires, Complément alimentaire, Gélules

Formulation test of food supplement based on dry extracts of *Hibiscus sabdariffa* flower calyces

Abstract

Using of functional foods in pharmaceutical formulas while preserving their chemical, biological and biochemical properties is becoming a major concern for a large number of actors.

The work carried out is therefore a contribution to the formulation test of a food supplement based on dry extracts of *Hibiscus sabdariffa*, a potential source of antioxidant. The quantitative analysis based on the determination of the contents of total anthocyanins (TAT), total phenolic compounds (TCP) and antioxidants (TAO) by the DPPH method presented the values respectively of 83.9±0.15 mg equivalents of cyanidin 3-glucoside/g dry extract, 261.23±10.38mg EAG/g dry extract and 101.74±0.74mg ET/g dry extract. The determination of the antiradical activity showed that the purified extract of *H. sabdariffa* is active (low IC₅₀) but remains less active than the Trolox used as reference. Formulation tests of the different anthocyanin extracts are carried out and the flowability of each extract is evaluated by determining the compressibility and Hausner indices. A quantitative analysis of the capsules after formulation showed that the contents of total anthocyanins, phenolic compounds and antioxidants show a non-significant difference. This suggests that the use of the excipient does not present major degradation effects of the active substances of the extracts.

Keywords : *Hibiscus sabdariffa*, Anthocyanins, anti-radical activities, food supplement, capsules

Introduction

Le développement des aliments fonctionnels est l'une des grandes tendances en science technologie et alimentaire. Ces aliments fonctionnels sont constitués en général des métabolites secondaires rencontrés dans le règne végétal. En effet, les tissus végétaux contiennent un grand nombre de substances à fonction phénol dont les plus courantes sont : les flavonoïdes dont les anthocyanes, les tanins et les acides phénoliques[1]. La présence de ces composés confère aux plantes des propriétés physiques, chimiques et biologiques intéressantes. Ils agissent en agents inhibiteurs de la formation de l'oxygène singulet ou réducteurs des radicaux libres qui sont à l'origine du stress oxydatif et des maladies dégénératives [2]. D'un point de vue applicatif, ces molécules constituent souvent la base des principes actifs des plantes médicinales ainsi que le développement des aliments fonctionnels.

Les composés phénoliques en général, et les anthocyanes en particulier constituent l'une des principales classes de métabolites secondaires[3]. Ces composés constituent la base de la mise au point des ingrédients alimentaires en général et suscitent un grand intérêt par leurs nombreux effets bénéfiques pour la santé : prévention et traitement de certains cancers, traitement des maladies inflammatoires, cardiovasculaires et neurodégénératives[2]. Certains d'entre eux sont également utilisés comme colorant naturel ou comme additifs pour les industries agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique [4].

C'est le cas calices des fleurs de *Hibiscus sabdariffa* (Bissap) qui sont des sources potentielles des polyphénols en général, mais des anthocyanes en particulier[3]. En effet, les calices des fleurs de *H. sabdariffa* qui entrent principalement dans la fabrication de la boisson locale appelée « bissap » doit sa couleur rouge exclusivement aux anthocyanes. Des études ont été centrées plus spécifiquement sur la détermination de la composition chimique des extraits de *Hibiscus sabdariffa* [5]. Cependant, très peu d'études ont permis de développer un complément alimentaire à base de ces extraits. L'objectif du présent travail est de formuler un complément alimentaire à base des extraits sec des calices des fleurs de *H. sabdariffa*.

Plus spécifiquement, il s'agira pour nous de :

Réaliser un criblage phytochimique des extraits ;

Doser les anthocyanes totaux, les polyphénols totaux et les antioxydants des extraits ;

Formuler un complément alimentaire à partir des extraits préparés.

Doser les anthocyanes totaux, les polyphénols totaux et les antioxydants des formules.

Matériel et méthodes

Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de la poudre des calices secs des fleurs de *H. sabdariffa* (bissap). Les calices utilisés au cours de ce travail sont « tout venant » obtenus sur la place des marchés de la ville de Ouagadougou dans le mois Août 2021. Les calices sont réduits en poudre à l'aide d'un broyeur électrique à l'Institut de Recherche en Sciences Appliquée et Technologique (IRSAT).

Extraction et purification

Une masse de 100 grammes de poudre des calices est macérée à l'eau avec un volume convenable pendant 24 h à 4 °C. L'extrait aqueux obtenu est centrifugé puis filtré à l'aide de papier filtre. L'opération est répétée trois fois. L'ensemble des filtrats est rassemblé et lyophilisé. L'extrait lyophilisé obtenu est conservé à 4°C dans les flacons stériles pour les analyses qualitatives et quantitatives. Une autre macération a consisté à macérer 100 grammes de poudre des calices de *H. sabdariffa* à l'eau. Après centrifugation et filtration à l'aide de papier filtre, l'ensemble des filtrats obtenu est passé sur l'amberlite. Après le dépôt et la fixation sur la résine Amberlite XAD-7, la colonne est lavée avec de l'eau distillée acidifiée à 1 % pour éliminer les substances solubles dans l'eau. Ainsi restent fixé sur la résine, les anthocyanes et autres composés phénoliques que l'on récupère de la résine par élution avec de l'éthanol acidifié 1 % TFA pour obtenir l'extrait riche en phénol. Cet extrait est concentré sous vide presque sec avec un évaporateur rotatif de marque BUCHI à une température inférieure à 40 °C, puis récupéré avec de l'éthanol et précipité dans de l'acétate d'éthyle pur. Le précipité est séché au dessiccateur sous vide. L'extrait sec riche en phénol obtenu est conservé à 4 °C pour des analyses qualitatives et quantitatives.

Analyses qualitatives

Test de révélation

Le test de révélation a consisté à mettre en évidence les anthocyanes. Les anthocyanes sont surtout identifiées par leur couleur. En milieu acide elles sont rouges si $R_3 = OH$ ou $R_3 = O-glycosyle$; et jaune si $R_3 = H$. En milieu basique, les anthocyanes rouges virent au bleu, tandis que les jaunes deviennent rouges. L'addition de chlorure de l'aluminium permet de détecter les anthocyanes possédant les groupements orthodiphénols libres sur le noyau B, par un virage de la coloration rouge au bleu violacé.

Chromatographie sur couche mince (CCM)

La CCM a été utilisée pour confirmer la présence dans l'extrait de groupes chimiques révélés par les tests de révélation. Une plaque en aluminium d'une mince couche de 0,2 mm de gel de silice a été utilisée. L'éluant utilisé est composé de l'acide acétique/acide formique/acétate d'éthyle/eau dans les proportions 10 : 1,1 : 1,1 : 2,6 v/v. Le dépôt de l'extrait est fait à l'aide d'un tube capillaire. La tache déposée est distante des bords de 1 cm. Une fois les taches séchées la plaque est introduite dans une cuve contenant l'éluant. Les composés contenus dans l'extrait migrent et se séparent au long de la plaque. À la fin de la migration la plaque est retirée de la cuve et les différents rapports frontaux des tâches obtenues sont calculés.

Spectroscopie UV-Visible

La caractérisation des composés phénoliques et particulièrement les composés anthocyaniques fait appel aux techniques spectroscopiques telles que la spectrométrie électronique. Les composés anthocyaniques absorbent entre 250 nm et 700 nm. Les spectres des extraits ont été enregistrés dans les solvants alcooliques (méthanol acidifié 1 % de HCl.). Quelques gouttes de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) sont ajoutées aux extraits et un nouveau spectre est enregistré. Les spectres ont été obtenus à l'aide d'un spectromètre DES 190, système à double énergie de chez SAFAS-MONACO.

2.4. Analyses quantitatives

Dosage des anthocyanes totales

Les teneurs totales en anthocyanes des extraits de *H. sabdariffa* sont estimées à l'aide d'un spectrophotomètre mono-cuve de marque DES 190, système à double énergie de chez SAFAS-MONACO par la méthode de pH différentiel utilisant deux systèmes tampons : la solution de chlorure de potassium, pH 1,0

(0,025 M) et la solution d'acétate, pH 4,5 (0,4 M).

L'absorbance A de l'échantillon dilué est calculée à partir de la relation suivante :

$$A = (A_{510} - A_{700})_{pH\ 1,0} - (A_{510} - A_{700})_{pH\ 4,5} \quad (1)$$

La concentration monomérique d'anthocyanes totales dans l'extrait est calculée comme la cyanidin-3-glucoside selon la loi de Beer Lambert [6]

$$[\text{Anthocyanes (mg/l)}] = (A \times M \times D \times 1000) / (\epsilon \times l) \quad (2)$$

Avec :

A : absorbance de l'échantillon calculée en (1) ; **M** : masse moléculaire de la cyanidine-3- glucoside (449,2)

D : facteur de dilution ; ϵ : Coefficient d'extinction molaire de la cyanidine - 3-glucoside (26900) ; **l** : épaisseur de la cuve (cm) ;

1000 : facteur de conversion de gramme en milligramme.

Dosages des composés phénoliques totaux

Les teneurs en composés phénoliques des différents extraits ont été déterminées par la méthode de Folin-ciocalteu [1]. Cette méthode consiste à faire réagir 60 μ L de l'extrait avec 60 μ L du réactif de Folin-ciocalteu. Après 8 min, 120 μ L de carbonate de sodium à 7,5% (p/v) y sont ajoutés. Après 30 min d'incubation, l'absorbance est lue à 765 nm à d'un spectromètre multipuits MP96 SAFAS. Une courbe d'étalonnage est préalablement établie en utilisant l'acide gallique comme référence. Les résultats sont exprimés en mg d'équivalents d'acide gallique (EAG)/g d'extrait sec.

Mesure de la capacité antioxydante des extraits

Pour évaluer les activités antioxydantes, nous avons utilisé le test de DPPH. Le radical commercial DPPH est dissous dans du méthanol (2mg/50mL). Une courbe d'étalonnage est établie en utilisant le Trolox comme référence. 50 μ L d'extraits sont mélangés (convenablement dilué) à 200 μ L de la solution méthanolique du DPPH. Après 10 min d'incubation, la lecture des absorbances est faite à 517 nm à l'aide d'un lecteur spectrophotomètre multipuits MP96, SAFAS. Ces absorbances sont rapportées sur la courbe d'étalonnage et les résultats sont exprimés en milligrammes (mg) d'équivalent de Trolox par gramme d'extrait sec (ET/g d'extraits secs).

Pour mieux confirmer l'activité des différents extraits, nous avons déterminé les IC₅₀ des extraits. Les IC₅₀ sont exprimées en μ g/mL en rapportant la moitié de l'absorbance du DPPH sans échantillon sur la courbe de régression de chaque échantillon.

Méthodologie de mise au point de la formulation

La formulation est par définition la réalisation d'une succession de choix selon un raisonnement scientifique pour aboutir d'une part à une composition qualitative et quantitative optimale et d'autre part à la mise en œuvre d'une technique de fabrication. La forme galénique choisie est la forme gélule destinée à une administration orale. L'excipient entrant dans la formulation est Aérosol 200 (silice colloïdale anhydre) à 1.25% dans le cas où l'extrait présenterait un mauvais écoulement. L'Aérosol 200 est un agent de régulateur d'écoulement (Glidant), son rôle est d'améliorer la fluidité du mélange ainsi que le glissement des particules pour faciliter le remplissage des gélules.

Réalisation des gélules des différents extraits

Pour le remplissage des gélules, des tests d'écoulement des différents extraits ont été effectués par la méthode basée sur la détermination de l'indice de compressibilité ou indice de Carr et la méthode basée sur la détermination de l'indice de Hausner [7]. L'indice de compressibilité et l'indice de Hausner consiste à mesurer le volume apparent non tassé V₀ puis le volume final V_f obtenu en provoquant le tassement de la poudre jusqu'à obtention d'un volume constant. L'indice de compressibilité et l'indice de Hausner sont définis respectivement par les expressions suivantes :

$$\text{Indice de compressibilité} = \frac{100(V_0 - V_f)}{V_0}; \text{Indice de Hausner} = \frac{V_0}{V_f}$$

L'ensemble des résultats est rapporté à une table d'échelle d'aptitude à l'écoulement inscrite dans la pharmacopée européenne

Tableau 1

Tableau 1 : Échelle d'aptitude à l'écoulement [7]

Indice de compressibilité (%)	Aptitude à l'écoulement	Indice de Hausner
1-10	Excellente	1,00-1,11
11-15	Bonne	1,12-1,18
16-20	Assez bonne	1,19-1,25
21-25	Passable	1,26-1,34
26-31	Médiocre	1,35-1,45
32-37	Très médiocre	1,46-1,59
>38	Extrêmement médiocre	>1,60

La mise au point de la formulation a consisté à choisir à priori le numéro de gélule et à calculer le volume total requis à partir du volume nominal d'une gélule et du nombre de gélules voulu [7]. Nous avons choisi une gélule de taille (numéro) zéro (0) correspondant à 0,68ml de contenus. Les extraits présentant un écoulement mauvais sont mélangés au mortier avec la silice colloïdale anhydre (l'Aérosol 200) suivant les règles de mélange (mélange par portions progressives). Le mélange obtenu servira à remplir les gélules à l'aide du gélulier semi-automatique. Pour les extraits présentant une aptitude à écoulement acceptable le remplissage des gélules est fait sans ajout d'excipient.

Nous avons réalisé une analyse quantitative sur la forme galénique obtenue (gélule), à savoir le dosage en anthocyanes totales, en composés phénoliques totaux et l'évaluation de l'activité antioxydante. Toutes ces analyses ont été effectuées par les mêmes méthodes correspondantes et décrites précédemment.

Résultats et discussion

Test de révélation

L'extrait lyophilisé et l'extrait purifié de *H. sabdariffa* donnent une coloration rouge en milieu acide et virent au bleu verdâtre en milieu basique (**Figure 1**), mettant en évidence la présence des composés anthocyaniques dont la position 3 (R3) est soit O-glycosylé ou hydroxylé (OH). De plus, l'addition de quelques gouttes de AlCl₃ 5 % donne une coloration bleu violacée (**Figure 2**) due à la formation d'un complexe entre l'aluminium et les hydroxyles (OH). Ce qui renseigne sur la présence des anthocyanes possédant les

groupements orthodiphénols libres sur le noyau B



Figure 1 : mise en évidence des anthocyanes de l'extrait de *H. sabdariffa*
(A) : milieu acide ; (B) : témoin ; (C) : milieu basique

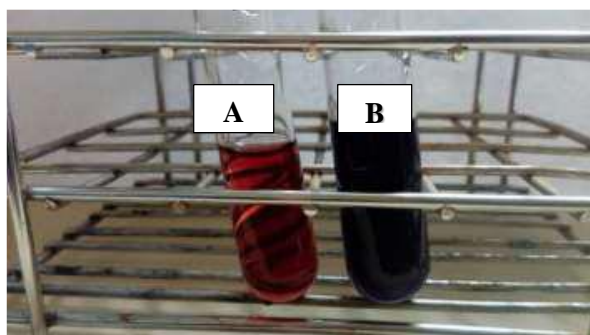


Figure 2 : mise en évidence des groupements ortho-diphénol libre
A : témoin ; B : témoin + AlCl₃

Spectrométrie UV-Visible

Nous avons enregistré le spectre UV-visible des extraits de *H. sabdariffa* dans le méthanol acidifié 1%. Le spectre fait apparaître deux (2) bandes caractéristiques des composés anthocyaniques. L'une dans l'UV vers 286 nm et l'autre dans le visible vers 544 nm. La bande dans l'UV, due aux groupements phénoliques des noyaux aromatiques. La bande dans le visible, due à l'absorption du noyau C (**Figure 3**) caractéristique des anthocyanes.

Le rapport A₃₁₀/A_{vis.max} vaut 70% et l'absence d'épaulement autour de 300 à 330 (**Figure 3**) indique l'absence d'acylation aromatique. Par ailleurs, le rapport A₄₄₀/A_{vis.max} vaut 26%, ce qui indiquerait que les composés anthocyaniques contenus dans notre extrait sont glycosylés en position 3 et que la position 5 est libre.

L'addition de 2 à 3 gouttes de AlCl₃ dans les solutions méthanoliques provoque un déplacement bathochrome du maximum d'absorption dans le visible de + 47 nm (**figure 4**), ce qui révèle la présence de groupement orthodiphénols libre sur le noyau B.

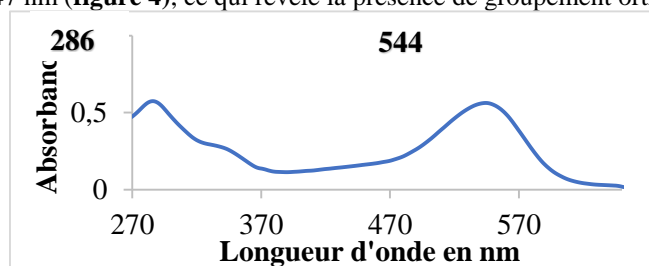


Figure 3 : Spectre UV/visible de l'extrait de *H. sabdariffa*
(Méthanol-HCl, 99 :1 v/v)

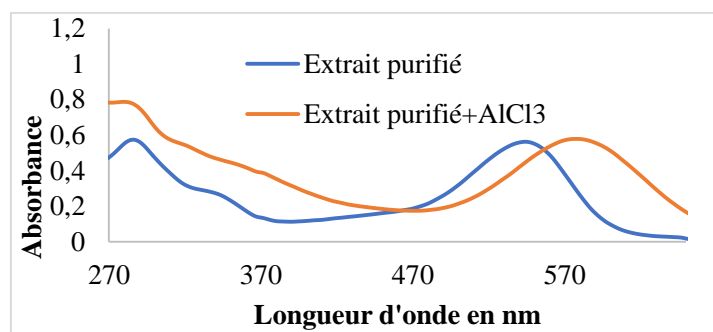


Figure 4 : Spectre UV/visible de l'extrait de *H. sabdariffa* + AlCl₃ (Méthanol-HCl, 99 : 1 v/v)

Chromatographie sur couche mince (CCM)

Le chromatogramme sur couche mince de l'extrait de *H. sabdariffa*, a montré deux spots majoritaires **1** et **2** avec des rapports frontaux respectivement (Rf) égal à 0,24 et à 0,29 (**Figure 5**). Ces deux composés absorbent dans le visible et présentent des Rf relativement faibles. Ces informations permettent de dire que les spots majoritaires obtenus correspondraient aux composés anthocyaniques présentes dans les calices des fleurs de *H. sabdariffa*. Ces anthocyanes seraient des glycosylées en égard à leur faible Rf. Ce qui serait en accord avec les résultats précédemment obtenus.

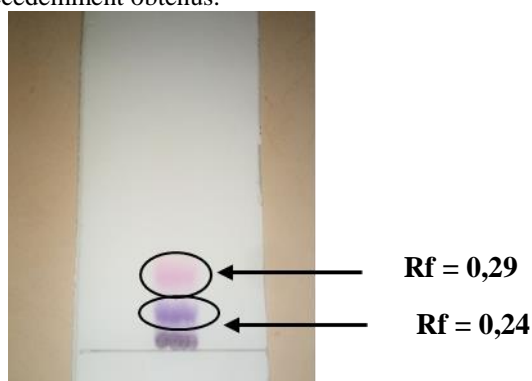


Figure 5 : Chromatogramme de l'extrait de *H. sabdariffa*

Le support est le gel silice 60 (0,1 mm ; Merck) ; l'éluant est EFAW (acétate d'éthyle-acide formique acide acétique-eau, 100 : 11 : 11 : 26, v/v).

L'analyse qualitative montre que l'extrait de *Hibiscus sabdariffa* renferme des composés bioactifs telles que les anthocyanes. Cela est en accord avec les données de la littérature qui indique que *Hibiscus sabdariffa* contiendrait des dérivés de la cyanidine et de la delphinidine.

Ces composés bioactifs en général et les anthocyanes en particulier sont reconnus pour leur utilité dans l'industrie agroalimentaire comme complément alimentaire. Ces compléments alimentaires sont capables d'exercer des effets biologiques divers : activités anti-oxydantes, anti-inflammatoire diurétiques etc. Ce qui nous conduit dans la suite de notre travail à effectuer une analyse quantitative de ces extraits. Il s'est agi de manière spécifique de la détermination de la teneur en anthocyanes totales, en composés phénoliques et en antioxydants que contiennent ces extraits.

Détermination de la teneur en anthocyanes totales (TAT)

Le dosage en anthocyanes totales des extraits de *H. sabdariffa* a été réalisé par la méthode de pH différentiel. Les teneurs sont exprimées en mg d'équivalents de cyanidine-3- glucoside (EGyd) par gramme d'extrait sec. Les résultats obtenus sont présentés dans le **tableau 2**

Tableau 2 : Teneur en anthocyanes totales des extraits

Extraits	Teneur en anthocyanes totale
<i>H. sabdariffa</i> lyophilisé	11,33±0,49
<i>H.sabdariffa</i> purifié	83,91±0,15

L'analyse des résultats montre que l'extrait purifié de *H. sabdariffa* présente une teneur (83,91±0.15 mg EGyd/g d'extrait sec) qui est 8 fois supérieure celle de l'extrait lyophilisé de *H. sabdariffa* (11,33±0.49 mg EGyd/g d'extrait sec) Cela s'expliquerait par l'action de la résine XAD-7 dont le rôle est de purifier les composés anthocyaniques en éliminant des composés indésirables qui pourraient empêcher une meilleure quantification des anthocyanes dans l'extrait.

Détermination de la teneur en composés phénoliques totaux (TCP)

Le dosage des composés phénoliques a été effectué par la méthode de Folin-Ciocalteu. L'acide gallique est utilisé comme standard. Les résultats, exprimés mg d'équivalent d'acide gallique (EAG) par g d'extrait sec ont été déterminés à partir de l'équation de la courbe d'étalonnage ($y = 16,337x + 0,0111$) avec un coefficient de régression de $R^2 = 0,9997$ et consignés dans le **Tableau 3**

Tableau 3 : Teneur en composés phénoliques totaux (TCP)

Extraits	TCP en mg EAG/ g d'extrait sec
<i>H.sabdariffa</i> lyophilisé	37,15 ± 0,57
<i>H.sabdariffa</i> purifié	261,23 ± 10,38

L'analyse des résultats montre que l'extrait de *H. sabdariffa* purifié présente une teneur en polyphénols environ 7 fois supérieur à celle de l'extrait lyophilisé *H. sabdariffa*. Cette teneur en composés phénoliques élevée dans l'extrait purifié s'expliquerait par le fait que la résine, par sa grande capacité de rétention des composés phénolique et l'élimination des composés non phénoliques a permis d'enrichir l'extrait en composés phénoliques.

Détermination de la teneur en activité anti-oxydante (TAO)

La teneur en antioxydant totaux des différents extraits a été évaluée en utilisant la méthode DPPH. Une courbe d'étalonnage est préalablement établie en utilisant le Trolox comme substrat de référence. Les résultats, exprimés en mg d'Équivalent de Trolox (ET) par gramme d'extrait sec ont été déterminés à partir de l'équation de la courbe d'étalonnage ($y = -18,665x + 1,0819$) avec un coefficient de régression de $R^2 = 0,9989$ et consigné dans le **tableau 4**

Tableau 4 : Teneur en activité anti-oxydante (TAO)

Extraits	TAO en mg ET/g d'extraits sec
<i>H. sabdariffa</i> lyophilisé	29,16 ± 0,09
<i>H.sabdariffa</i> purifié	101,74 ± 0,74

L'extrait de *H. sabdariffa* purifié présente la teneur la plus élevée (101,74 mg ET/g d'extrait sec) en antioxydant par rapport à l'extrait lyophilisé de *H. sabdariffa* (29,16 mg ET/g d'extrait sec).

Les activités antioxydantes constatée peuvent être expliquée par la présence des composés phénoliques dans les différents extraits. En effet, les composés phénoliques agissent à travers leurs groupements OH qui sont capables de céder des protons radicaux. L'efficacité antioxydante des extraits a été évaluée en calculant les IC₅₀ (Intensité Colorante) qu'on compare à celle de l'antioxydant classique (Trolox) pris comme référence dans le souci de confirmer davantage les propriétés biologiques des extraits. L'équation des différentes courbes de tendance de l'antioxydant de référence et des extraits ont permis de déterminer leurs IC₅₀ exprimé en µg/ml. L'ensemble des résultats sont présentés dans le **tableau 5**. L'analyse des résultats obtenus montre que les extraits de *H. sabdariffa* purifié est possède un IC₅₀ (89.86±0.002 µg/ml) plus faible dont plus actif que l'extrait de *H. sabdariffa* (1584,33±0,021 µg/ml) lyophilisé mais reste moins active que le trolox (29,09±0,0006 µg/ml).

Tableau 5 : Activités anti-radicalaires du standard et des extraits exprimés en IC₅₀

Extraits	IC50 en µg/ml
<i>H.sabdariffa</i> lyophilisé	1584,33±0,021
<i>H.sabdariffa</i> purifié	89,86± 0,002
Trolox	29,09±0,0006

De ces analyses, il ressort que les différents extraits sont riches en anthocyanes totales, en composés phénoliques et présenteraient une bonne activité antioxydante. Ce qui justifierait une mise au point d'un complément alimentaire à base de ces extraits.

Formulation par gélules

Tests d'écoulement des différents extraits

La méthode utilisée pour tester l'aptitude à écoulement des différents extraits est la méthode basée sur la détermination de l'indice de Carr (indice de compressibilité) et l'indice de Hausner [7]. Les résultats obtenus sont consignés dans le **Tableau 6**. L'analyse des résultats montre que l'extrait lyophilisé de *H. sabdariffa* présente une assez bonne aptitude à écoulement. Cependant l'extrait purifié de *H. sabdariffa* a présenté une aptitude à l'écoulement extrêmement médiocre. La silice colloïdale anhydre (Aérosol 200) est utilisée comme un excipient pour améliorer l'aptitude à l'écoulement de l'extrait purifié de *H. sabdariffa* avant le remplissage des gélules.

Tableau 6 : Récapitulatif des résultats du test d'écoulement

Extraits	Volume apparent (ml)	Volume tassé (ml)	Indice de compressibilité %	Indice de Hausner	Aptitude à l'écoulement
<i>H. sabdariffa</i> lyophilisé	20	16	20 %	1,25	Assez bonne
<i>H. sabdariffa</i> purifié	23	14	39,13 %	1,64	Extrêmement médiocre

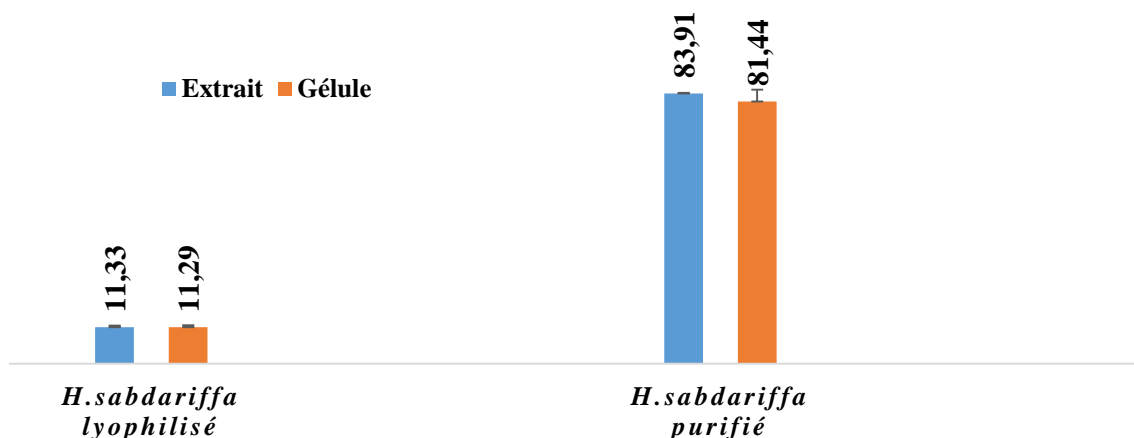
Remplissage des gélules

Les gélules réalisées (**figure 6**) sont de taille zéro (0). Elles correspondent à un volume de 0,68 ml. Le nombre de gélule est obtenu en fonction du volume disponible de chaque extrait. Nous avons obtenu 20 gélules contenant chacune 533 mg d'extrait sec lyophilisé de *H. sabdariffa*, 40 gélules contenant chacune 147 mg d'extrait sec purifié de *H. sabdariffa*

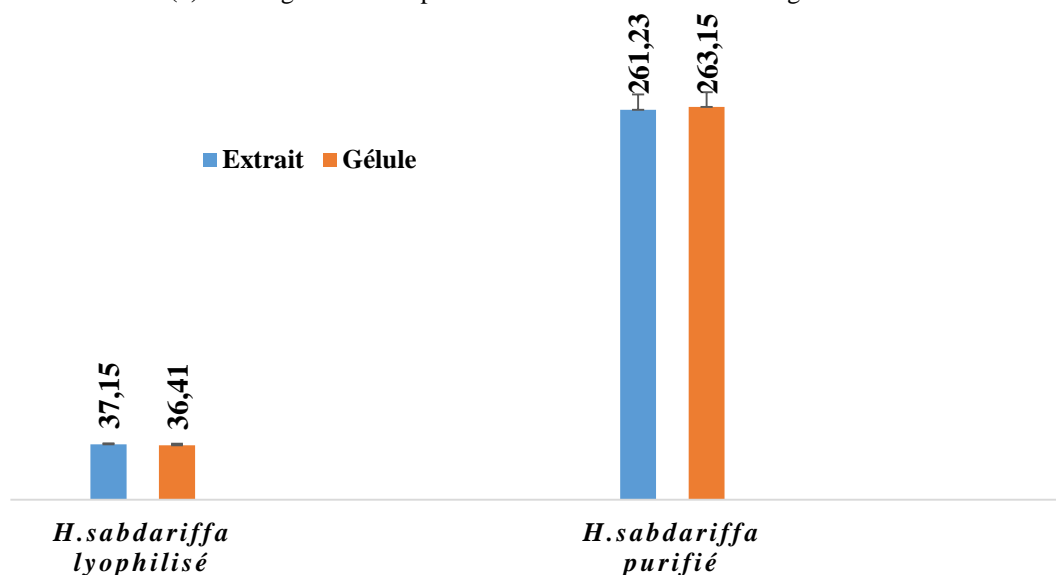


(a) Gélule de l'extrait lyophilisé de *H. sabdariffa* (b) Gélule de l'extrait purifié de *H. sabdariffa*

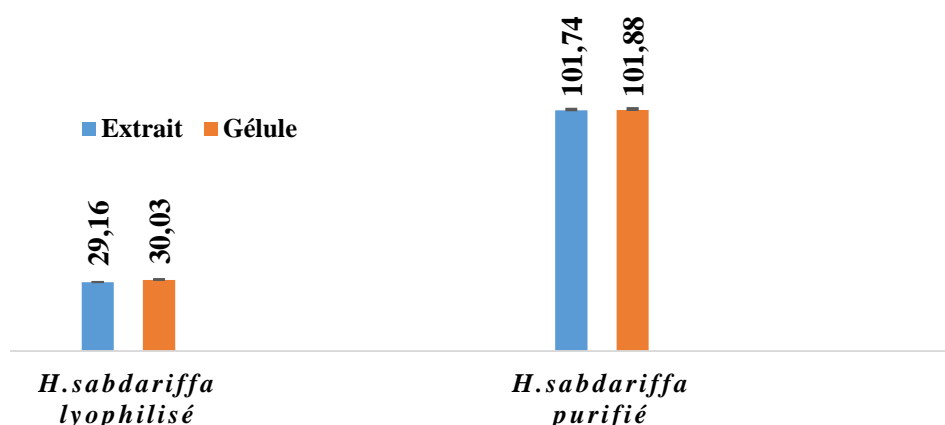
Une analyse quantitative des gélules a été réalisée. Il s'est agi à la détermination de la teneur en anthocyanes totales, en composés phénoliques et en antioxydants. L'ensemble des résultats obtenus est présenté à travers un histogramme comparatif entre les extraits et les gélules (figure a, b et c). L'analyse des résultats montre une différence non significative. Ces résultats suggèrent que l'apport de l'excipient (silice colloïdale anhydre) pour améliorer l'aptitude d'écoulement et le processus de formulation n'ont aucun effet sur la teneur en anthocyanes totales, en composés phénoliques et en antioxydants.



(a) Histogramme comparatif des TAT des extraits et les gélules



(b) Histogramme comparatif des TCP des extraits et les gélules



(c) Histogramme comparatif des TAO des extraits et les gélules

Conclusion et perspectives

Deux extraits secs ont été obtenus à partir des calices secs de *H. sabdariffa* à savoir un extrait purifié et un extrait lyophilisé. L'analyse qualitative révèle que les extraits secs de l'espèce renferment des composés bioactifs telles que les anthocyanes [8]. En effet, selon les données de la littérature, ces composés seraient des dérivés de la cyanidine et de la delphinidine. L'analyse quantitative montre que l'extrait purifié renferme les meilleurs teneurs en anthocyanes totales ($83,91 \pm 0,15$ mg EGyd/g d'extrait sec), en composés phénolique ($261,23 \pm 10,38$ mg EAG/g d'extrait sec) et antioxydant ($101,74 \pm 0,74$ mg ET/g d'extraits sec) par la méthode DPPH. L'extrait purifié est également plus actif mais est moins active que le standard utilisé (Trolox). Ces différents ont été formulé en gélules. L'analyse quantitative des formules ont montré une différence non significative sur les teneurs en anthocyanes, en composé phénoliques et en antioxydants. Cela suggère que l'excipient utilisé ainsi que le processus de formulation n'ont pas effet sur la substance active des extraits. Cependant, l'étude de l'innocuité de ces extraits s'avère nécessaire.

En perspectives, nous envisageons :

D'étudier l'innocuité de ces extraits à travers une étude toxicologique ;

De réaliser des analyses microbiologiques ;

De proposer d'autres formes galénique telles que la forme sirop, comprimée, etc. ;

D'identifier les structures des composés anthocyaniques par des méthodes spectrales telles que la HPLC/MS ; MS/MS et la RMN.

Références bibliographiques

- [1] Ribéreau-Gayon, P., *Ribéreau-Gayon, P. (1968). <<Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Dunod, Paris. 164 pages. Ed. Dunod, Paris, 1968>>*.
- [2] Kerharo, J. G., *La pharmacopée sénégalaise traditionnelle. Plantes médicinales et toxiques.*, Ed. Vigot Frère, vol. 1011 pages. Paris., 1974.
- [3] « Etude des anthocyanes des plantes du Burkina Faso... - Google Scholar ». (consulté le 26 juillet 2021).
- [4] Pascal G., « Additifs antioxygènes. In : Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaires, J. L. Multon, Lavoisier-Tec & Doc–Apria Paris, 1984. p.161-185. ».
- [5] É. Palé, M. Kouda-Bonafos, et M. Nacro, « Caractérisation et mesure des activités anti-radicalaires d'anthocyanes de plantes du Burkina Faso », *Comptes Rendus Chimie*, vol. 7, n° 10-11, p. 973-980, oct. 2004, doi: 10.1016/j.crci.2003.12.019.
- [6] T. Fuleki et F. J. Francis, « Quantitative Methods for Anthocyanins.: 2. Determination of Total Anthocyanin and Degradation Index for Cranberry Juice », *J Food Science*, vol. 33, n° 1, p. 78-83, janv. 1968, doi: 10.1111/j.1365-2621.1968.tb00888.x.
- [7] Conseil de l'Europe et Service européen de la qualité du médicament & soins de santé, Éd., *Pharmacopée européenne : « publiée selon la convention relative à l'élaboration d'une pharmacopée européenne*, 3e éd. Strasbourg : Conseil de l'Europe, 2007.
- [8] Palé, E., « Étude des anthocyanes des plantes du Burkina Faso : Structure et activités antioxydantes. Thèse d'état, Université de Ouagadougou, 145 pages. » 2002.

Etude phytochimique de *Guiera senegalensis*, une plante utilisée pour soigner les parasitoses (paludisme) au Burkina Faso

Sié Amédée Palé¹, Remy K. Bationo¹, Adama Hema¹, Constantin M. Dabiré¹, Moumouni Koala^{1,2} Eloi Palé^{1*} et Mouhoussine Nacro¹

¹Laboratoire de Chimie Organique et de Physique Appliquées (L.C.O.P.A.), Université Joseph KI-ZERBO, UFR/SEA, Département de Chimie 03 BP 7021 Ouagadougou 03 Burkina Faso.

²Institut de Recherche en Sciences de la Santé, Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique (IRSS/CNRST), 03 BP 7047 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

³CNRST/IRSAT/ Département Substances Naturelles, 03 BP 7047 Ouagadougou 03 Burkina Faso

*Auteur correspondant : eloipale@yahoo.fr

Résumé

Les parasitoses sont les maladies les plus prioritaires selon le ministère de la santé au Burkina Faso. Une plante du nom de *Guiera senegalensis* est beaucoup utilisée par la population pour soigner ces pathologies, plus précisément le paludisme qui est à l'origine de près de 22 % des décès au Burkina Faso. Cependant, la disponibilité d'informations scientifiques à même d'aider les tradipraticiens pour l'utilisation de cette plante demeure une préoccupation majeure. Des analyses qualitatives et quantitatives d'extraits de feuilles de *Guiera senegalensis* ont permis de constater la présence de métabolites secondaires tels que les composés phénoliques (flavonoïdes) et les alcaloïdes. Après deux hydrolyses acides suivies de tests CCM et à l'UV-vis, un essai d'identification a indiqué la présence de quelques dérivés de la quercétine. Ainsi, les teneurs en composés phénoliques totaux et flavonoïdes totaux déterminées sont respectivement de $165,90 \pm 0,75$ µg EAG /mg d'extrait sec et $97,30 \pm 0,60$ µg EQ /mg d'extrait sec. La teneur en alcaloïdes totaux est estimée à $387,95 \pm 0,30$ µg Eq /mg d'extrait sec. Par la méthode DPPH, la teneur en antioxydant est estimée à $159,81 \pm 1,61$ mg d'ET/g d'extrait sec. Ces composés présents dans les feuilles de *Guiera senegalensis* pourraient expliquer ses activités antiparasitaires, antifongiques et antioxydantes constatées. En perspective, il sera réalisé une identification formelle des structures moléculaires des dérivés de la quercétine que contiendrait les feuilles de *Guiera senegalensis*.

Mots clés : *Guiera senegalensis*, alcaloïdes, paludisme, antiparasitaire.

Phytochemical study of *Guiera senegalensis*, a plant used to treat parasitosis (malaria) in Burkina Faso.

Abstract

Parasites are the highest priority diseases according to the Ministry of Health in Burkina Faso. A plant called *Guiera senegalensis* is widely used by the population to treat these pathologies, more specifically malaria, which is the cause of nearly 22% of deaths in Burkina Faso. However, the availability of scientific information able to help traditional healers for the use of this plant remains a major concern. A qualitative and quantitative analysis of *Guiera senegalensis* leaf extracts revealed the presence of secondary metabolites such as phenolic compounds (flavonoids) and alkaloids. After two acid hydrolyses followed by TLC and UV-vis tests, an identification test indicated the presence of some quercetin derivatives. Thus, the contents of total phenolic compounds and total flavonoids determined are respectively 165.90 ± 0.75 µg EAG /mg of dry extract and 97.30 ± 0.60 µg EQ /mg of dry extract. The total alkaloid content is estimated at 387.95 ± 0.30 µg Eq /mg of dry extract. Using the DPPH method, the antioxidant content is estimated at 159.81 ± 1.61 mg TE/g dry extract. These compounds present in the leaves of *Guiera senegalensis* could explain its observed antiparasitic, antifungal and antioxidant activities. In perspective, a formal identification of the molecular structures of quercetin derivatives contained in the leaves of *Guiera senegalensis* will be carried out.

Keywords : *Guiera senegalensis*, alkaloid, malaria, antiparasitic.

Introduction

Les parasitoses occupent une place de plus en plus importante dans les pathologies infectieuses ces dernières décennies. En milieu tropical ces infections représentent près de 40 % de l'ensemble des maladies tropicales autre que le paludisme [1]. Le paludisme quant à lui est à l'origine de près de 43 % des consultations médicales dont 22 % de décès au Burkina Faso [2]. Pour la prise en charge de ces pathologies, la médecine et la pharmacopée traditionnelles sont parfois les seules sources de soins abordables et accessibles, surtout pour les couches les plus vulnérables des pays en voie de développement et plus particulièrement le Burkina Faso.

Cependant, les recettes de plantes médicinales proposées par les tradipraticiens pour leurs prises en compte dans les stratégies nationales de riposte aux maladies infectieuses présentent des effets indésirables graves chez les patients [3]. En effet, de nombreuses études ont relevé des cas d'inefficacité et des accidents graves dus à la confusion d'espèces ou de partie de plantes médicinales [3] [4] [5]. Par exemple, l'utilisation directe de la poudre de *Teucrium chamaedry* au lieu de son infusion aurait causé des hépatites cytolytiques aiguës chez des patients dus à la présence dans la poudre de diterpènes lipophiles qui sont des molécules toxiques mais absents dans l'infusion [4][5].

Malgré les progrès notables dans la connaissance de plantes médicinales au Burkina Faso, celles spécifiquement utilisées dans le traitement des maladies parasitaires demeurent très peu connues et leurs recettes sont très souvent non homologuées. Ainsi, il est

nécessaire de mobiliser des données scientifiques notamment sur la composition chimique des plantes médicinales utilisées afin de limiter les risques thérapeutiques des tradipraticiens (TPS).

Le présent travail s'inscrit dans le cadre de la mise en place d'un Herbar national de plantes médicinales et d'une chimiothèque au Burkina Faso. Il a pour objectif général de contribuer à une meilleure connaissance de la composition chimique d'une (01) plante médicinale utilisée par les tradipraticiens dans la prise en charge des parasitoses (paludisme) au Burkina Faso.

Il s'agit spécifiquement de rechercher les familles chimiques de composés dans les extraits, de déterminer les teneurs de ces composés, d'évaluer les propriétés antioxydantes des extraits et d'identifier les composés ou groupes de composés potentiellement responsables des activités biologiques.

Matériel et méthodes

Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des feuilles de *Guiera senegalensis*. La plante a été récoltée à Gaoua dans le Sud -Ouest au mois de septembre 2021. Les feuilles ont été séchées à l'ombre pendant deux (2) à trois (3) semaines puis réduit en poudre.

Extraction

Cent (100) gramme du matériel végétal a été macéré par épuisement successif à l'aide de quatre (4) solvants dans l'ordre suivant : hexane, dichlorométhane, acétate d'éthyle et méthanol.

Une autre masse de cent (100) gramme a été également macérée avec de l'eau conformément au mode d'extraction des thérapeutes traditionnels.

2.3. Mise en évidence de quelques groupes chimiques dans les extraits

Elle a concerné la mise en évidence des flavonoïdes, des tanins, des stérols, des triterpènes et des alcaloïdes à l'aide des tests en tubes et de la chromatographie sur couche mince.

2.3.1. Test de caractérisation en tubes

Il s'est agi de prélever une fraction de chaque extrait et d'y mettre quelques gouttes de réactifs spécifiques à chaque famille donnée.

2.3.2. Caractérisation par chromatographie sur couche mince (CCM)

Chaque extrait est déposé sous forme de tache sur une plaque CCM à l'aide d'un tube capillaire. Une élution des taches est effectuée en utilisant un système de solvants convenablement choisi en fonction de la famille recherchée des différentes familles ou groupes ou sous-groupes de composés. Les composés sont observés à l'issue de l'exposition de la plaque à des vapeurs de réactifs et/ou l'observation à l'UV.

2.3.3. Essai d'identification de flavonoïdes par hydrolyse acide

Dans le but de déterminer les aglycones contenus dans les feuilles de *G. senegalensis*, une hydrolyse acide a été réalisée sur les extraits d'acétate d'éthyle et de méthanol. Cela a consisté en la préparation de 20 mg /mL de ces extraits en utilisant une solution d'acide chlorhydrique 5 %. 10 mL de la solution obtenue est porté à reflux pendant 30 min. Après refroidissement, l'hydrolysate a été soumis à une extraction à l'acétate d'éthyle (3* 2 mL). La phase organique a ensuite été analysée par CCM. Des standards tels que la quercétine et la rutine ont également été utilisés pour mieux apprécier les résultats.

2.3.4. Méthode d'identification de flavonoïdes par spectrométrie UV-visible

Les différentes taches obtenues après la CCM réalisée sur les extraits de méthanol et d'acétate d'éthyle hydrolysés de *G. senegalensis* ont été récupérées et dissoutes dans du méthanol afin de confirmer la présence éventuelle de flavonoïdes de type flavonol (quercétine) dans ces extraits. Pour ce faire, une spectrométrie UV-visible a été effectuée. Cela a consisté à placer les échantillons dans le spectromètre UV-visible et à observer l'évolution des différents pics entre 200 nm et 700 nm.

2.4. Evaluation des teneurs en composés.

2.4.1. Teneur en composés phénoliques totaux

Pour la détermination de la teneur en composés phénoliques totaux (CPT) de chaque extrait, la méthode de Folin-Ciocalteu [6] dont le mode opératoire a été adapté au lecteur microplaque a été utilisée. Cette méthode a consisté à préparer des solutions de l'extrait brut à différentes concentrations. Pour ce faire, 60 µL de chacune des solutions de l'extrait brut préparées, sont ajoutés à 60 µL du réactif de Folin-Ciocalteu (RFC). Le mélange est laissé à la température ambiante pendant huit minutes pour permettre la réaction complète du RFC sur les substances oxydables ou sur les phénolates. Ensuite, 120 µL de Na₂CO₃ (7,5% dans l'eau) sont ajoutés pour neutraliser les réactifs résiduels. Les absorbances sont lues à 760 nm contre un blanc à l'aide d'un lecteur microplaque (spectrophotomètre MP96, SAFAS) après incubation à 37 °C pendant 30 minutes. Une courbe d'étalonnage a été établie en utilisant l'acide gallique comme référence.

2.4.2. Teneur en flavonoïdes totaux

Les flavonoïdes totaux ont été dosés selon la méthode de Dowd adaptée par Vennat et collaborateurs telle que décrite par Arvouet-Grant (1994)[7]. Un volume de 5 ml de AlCl₃ à 2 % dans du méthanol est mélangé avec un volume égal d'extrait dilué dans du méthanol. La méthode a été adaptée au lecteur de plaques de 96 puits. En effet, 200 µL du mélange ont été placés dans chaque puits. Puis les absorbances ont été mesurées au bout de 10 minutes à 415 nm à l'aide d'un lecteur microplaque (spectrophotomètre MP96, SAFAS) contre un blanc. La quercétine a été utilisée comme standard pour l'établissement d'une courbe-étalon.

2.4.3. Teneur en alcaloïdes totaux

Cette méthode spectrophotométrique utilisée par Ajamal et al en 2012 [8] est basée sur le principe suivant : 1 mL de l'extrait est transféré dans une ampoule à décanter et lavé avec 10 mL de chloroforme (action répétée 3 fois). Le pH de cette solution est ajusté à neutre avec une solution de NaOH 0,1 N. Ensuite, 5 mL de vert de bromocresol et 5 mL de tampon phosphate sont ajoutés à cette solution. Le mélange est vigoureusement agité et le complexe obtenu est extrait avec 1 ; 2 ; 3 et 4 mL de chloroforme après agitation.

L'extrait chloroformique obtenu est recueilli dans une fiole de 10 mL et dilué avec du chloroforme jusqu'au trait de jauge. L'absorbance du mélange obtenu est lue à 470 nm contre un blanc. La teneur en alcaloïdes est calculée à l'aide d'une Courbe-étalon préalablement établie avec la quinine utilisée comme référence.

2.4.4. Teneur en antioxydants par la méthode DPPH

La méthode DPPH permet d'évaluer les propriétés antioxydantes d'un composé. Le radical DPPH• est dissout dans du méthanol (2 mg/50 mL). Le mode opératoire a consisté à mélanger 1 mL de l'extrait avec 4 mL de la solution méthanolique de DPPH. Le mélange est vigoureusement agité puis conservé à température ambiante et à l'abri de la lumière. La méthode a été adaptée au lecteur de plaques de 96 puits. En effet, 200 µL du volume du mélange ont été ajoutés dans chaque puits. Les absorbances lues sont mesurées à 517 nm contre un blanc avec le lecteur microplaque (spectrophotomètre MP96, SAFAS) après incubation à 37 °C pendant 10 minutes. Les absorbances lues sont rapportées sur la courbe d'étalonnage établie avec le trolox pris comme antioxydant de référence. Les résultats sont exprimés en mg d'équivalent de trolox (ET) par gramme de matériel végétal. Toutes les mesures ont été réalisées trois fois.

3. Résultats et discussion

3.1. Extraction-Rendement

Les rendements d'extraction des cinq (5) extraits sont calculés et exprimés en pourcentage (%). Les valeurs sont regroupées dans le tableau 1.

Tableau 20 : Valeurs des rendements d'extraction

Espèces	Fractions	Masse extrait m (g)	Rendement (%)	m/M
<i>Guiera senegalensis</i>	Hexane	2,4	2,4	
	DCM	2,8	2,8	
	Acétate d'éthyle	11,5	11,5	
	Méthanol	21,2	21,2	
	Eau	45	45	

Les résultats des rendements, ont montré de façon générale que le meilleur rendement d'extraction est obtenu avec l'eau (45 %). Par ailleurs, pour les extraits organiques, le meilleur rendement est obtenu avec le méthanol (21,2%) et le plus faible avec l'hexane (2,4 %). En effet, la solubilité d'une large gamme de métabolites secondaires dans les solvants polaires pourrait justifier ce fort rendement dans ces solvants (l'eau et le méthanol) comparativement aux solvants moins polaires (dichlorométhane et hexane)[9] [10]. Toutefois, les travaux sur les métabolites secondaires ont montré qu'ils sont présents sous forme glycosylée dans les plantes, ce qui les rend plus hydrosolubles. En outre, la complexité de ces composés leur confère un poids moléculaire élevé ; ce qui expliquerait ce fort rendement. Ces résultats sont en accord avec les travaux antérieurs qui montrent que nos deux plantes sont riches en composés polaires [11] [12].

3.2. Screening chimique

3.2.1. Mise en évidence des familles chimiques par tests en tube

Les familles chimiques recherchées dans nos extraits ont été les composés phénoliques (flavonoïdes, tanins), les terpénoïdes (terpènes et stérols) et les dérivés azotés (alcaloïdes). Après ajout des réactifs spécifiques de chaque famille chimique, la présence de la coloration caractéristique est matérialisée par un signe + et l'absence par un signe -. L'ensemble des résultats du screening phytochimique (test en tube) a été regroupés dans le tableau 2.

Tableau 21 : Résultats du Screening phytochimique des extraits

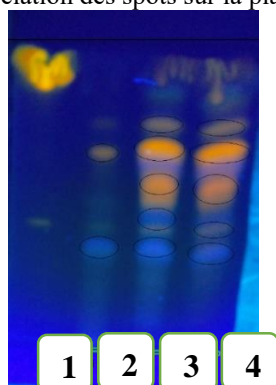
Plantes	Extraits	Groupes chimique chimiques mises en évidences			
		Flavonoïdes	Tanins	Alcaloïdes	Stérols et triterpènes
<i>G. senegalensis</i>	Eau	+	+	+	+
	Méthanol	+	+	+	+
	Acétate d'éthyle	+	+	+	+
	Dichlorométhane	+	+	+	-
	Hexane	+	+	+	-

+ : (positif) ; - : (négatif ou absence)

L'analyse de l'ensemble des résultats du tableau montre la présence des tanins, des flavonoïdes et les alcaloïdes dans tous les extraits de la plante. Les stérols et les triterpènes sont présents dans les extraits à l'eau, au méthanol et l'acétate d'éthyle de *G. senegalensis*. La présence de ces familles nous laisse prédire les activités biologiques des différents extraits. Pour les extraits à l'eau et au méthanol par exemple, ils pourraient présenter des activités antiparasitaires, antifongiques et antioxydantes. L'évaluation des quantités (teneurs) pourraient prédire l'activité biologique prédominante.

3.2.2. Mise en évidence des groupes chimiques par la Chromatographie sur Couche Mince (CCM)

Les flavonoïdes, les tanins, les triterpènes, les stérols et les alcaloïdes ont été également recherchés dans les extraits de *G. senegalensis* en utilisant les analyses chromatographiques (CCM). La figure 1 montre le chromatogramme CCM obtenus avec les extraits de la plante. L'éluant était : acétate d'éthyle, acide acétique, acide formique, eau aux proportions (100 :11 :11 :26 v/v). Le réactif de Neu a été utilisé pour la révélation des spots sur la plaque. L'observation a été sous UV-365 nm.



Tache 1 : Quercétine
Tache 2 : Extrait aqueux
Tache 3 : Extrait méthanolique
Tache 4 : Extrait d'acétate d'éthyle

EFAW : acétate d'éthyle, acide acétique, acide formique, eau (100 :11 :11 :26 v/v)

Figure 31 : Chromatogramme CCM des extraits aqueux, méthanolique et d'acétate d'éthyle de *G. senegalensis*.

Les colorations observées avec l'ensemble des extraits ont été regroupé dans le Tableau 3. L'analyse des résultats du tableau 1 montre la présence des flavonoïdes dans tous les extraits. Ces résultats sont en accord avec les travaux de Al Shafei et *al* en 2016 [13] sur *G. senegalensis*. De plus, les différentes colorations obtenues montrent la présence de plusieurs familles de flavonoïdes. En effet, l'analyse des travaux dans la littérature montre que la coloration jaune et orangée pourraient correspondre à la présence des flavonoïdes de type flavanols, la coloration jaune pourrait correspondre à la présence des flavonoïdes du type flavone et celle bleue pourrait être des flavonoïdes de type chalcone [14]. D'autres analyses telles que l'enregistrement des spectres UV et la CCM des différentes taches permettront de déterminer les structures possibles de composés dans les échantillons.

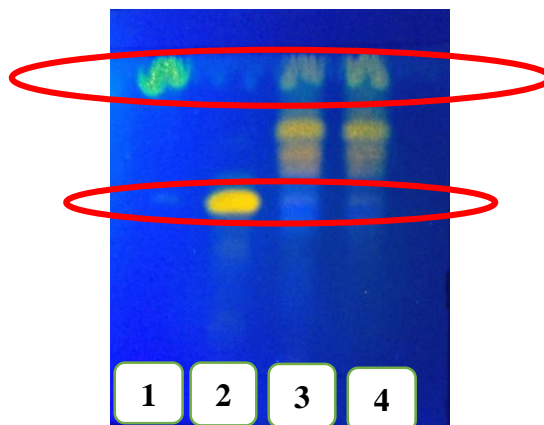
Tableau 22 : Résultat des différents tests de la CCM

Plantes	Extraits	Références frontales	Colorations obtenues après migration et pulvérisation des plaques CCM et/ou détection UV
<i>Guiera senegalensis</i>	Eau	0,4 ; 0,6.	Bleue et Jaune
	Méthanol	0,26 ; 0,4 ;0,6.	Bleue, Jaune et Jaune-orangée
	Acétate d'éthyle	0,26 ; 0,4 ;0,6.	Bleue, Jaune, Jaune-orangée

3.3. Essai d'identification de la structure de quelques composés

Plusieurs méthodes permettent d'identifier la structure des composés dans un extrait Brut. Dans cette partie nous avons utilisé la chromatographie sur couche mince après hydrolyse acide et la spectrométrie UV-Vis. En effet, pour identifier nos composés après une hydrolyse acide ces deux méthodes successives ont été les mieux adaptées et beaucoup plus accessibles au laboratoire LCOPA (Laboratoire de Chimie Organique et de Physique Appliquées).

L'analyse du chromatogramme (figure 1) nous a amené à refaire une CCM suivi d'une analyse UV-visible en utilisant uniquement les extraits de méthanol et d'acétate d'éthyle de *G. senegalensis* avec la quercétine et la rutine comme standards. En effet ces deux extraits ont présenté les meilleures taches après la migration des spots.



Tache 1 : Quercétine

Tache 2 : Rutine

Tache 3 : Extrait méthanolique

Tache 4 : Extrait d'acétate d'éthyle

EFAW : acétate d'éthyle, acide acétique, acide formique, eau (100 :11 :11 :26 v/v)

Figure 32 : chromatogramme des extraits méthanolique et d'acétate d'éthyle non hydrolysés de *G. senegalensis*.
Les résultats du chromatogramme (figure 2) sont regroupés dans le tableau 4.

Tableau 23 : Résultat des différents tests de la CCM avant hydrolyse acide

Plantes	Extraits	Références frontales	Colorations obtenues après migration et pulvérisation des plaques CCM et/ou détection UV
<i>Guiera senegalensis</i>	Méthanol	0,69 ; 0,76 ; 0,92.	Jaune-orangée, jaune et Jaune
	Acétate d'éthyle	0,69 ; 0,76 ; 0,92.	Jaune-orangée, jaune et Jaune

Les résultats du chromatogramme (figure 2) présentent dans l'ensemble plusieurs taches caractéristique des flavonoïdes. Parmi ces taches nous observons celle de coloration jaune-orangée, jaune et jaune qui correspondraient respectivement à des flavonoïdes de types flavanol et flavone [14]. Il faut aussi noter que les deux extraits présentent des taches ayant pratiquement les mêmes références frontales que la quercétine (Rf = 0,91) et la rutine (Rf = 0,53) utilisées comme standards. Cela pourrait s'expliquer par la présence de dérivés de la quercétine et de la rutine dans nos extraits. Une CCM après une première hydrolyse acide suivie d'une analyse à l'UV-visible nous permettront de vérifier notre hypothèse.

3.3.1. Essai d'identification par chromatographie sur couche mince

Les extraits bruts de méthanol et d'acétate d'éthyle de *G. senegalensis* ont fait l'objet de cette hydrolyse. La CCM réalisée après une première hydrolyse a donné le chromatogramme suivant :



Tache 1 : Quercétine

Tache 2 : Rutine

Tache 3 : Extrait méthanolique

Tache 4 : Extrait d'acétate d'éthyle

EFAW : acétate d'éthyle, acide acétique, acide formique, eau (100 :11 :11 :26 v/v)

Figure 33 : Chromatogramme des hydrolysats méthanolique et d'acétate d'éthyle de *G. senegalensis* : première hydrolyse

Tableau 24 : Résultat des différents tests de la CCM du premier hydrolysats

Plantes	Extraits	Références frontales	Colorations obtenues après migration et pulvérisation des plaques CCM et/ou détection UV
<i>G. senegalensis</i>	Méthanol	0,35 ; 0,43 ; 0,5 ; 0,81 ; 0,86 ; 0,97.	Bleue, jaune-orangée, bleue, bleue, jaune-orangée et Jaune
	Acétate d'éthyle	0,35 ; 0,50 ; 0,81 ; 0,97	Bleue, bleue, bleue et Jaune

Les résultats du tableau 5 obtenus après révélation des taches (figure 3) à l'aide du réactif de Neu donne des colorations caractéristiques des flavonoïdes. L'analyse du chromatogramme (figure 3) révèle la disparition de certaines taches et l'apparition de nouvelles taches avec les extraits bruts hydrolysés comparativement aux extraits bruts non hydrolysés. Cette disparition pourrait s'expliquer par la séparation des sucres des aglycones après hydrolyse acide.

Cependant deux taches ont attiré notre attention :

La tache de référence frontale 0,43 de l'extrait méthanolique possède les mêmes caractéristiques chromatographiques que la rutine utilisée comme standard (coloration jaune-orangée ; Rf=0,43) qui est une forme diglycosilée en position 3 de la quercétine.

La tache de référence frontale 0,97 des extraits méthanolique et d'acétate d'éthyle correspond à celle de la quercétine. En effet la tache de la quercétine observée sur le chromatogramme (figure 3) possède les mêmes caractéristiques chromatographiques (coloration jaune ; Rf= 0,97) que celles de nos deux extraits de *G. senegalensis*.

Ces résultats nous permettent de dire que les extraits méthanolique et d'acétate d'éthyle de *G. senegalensis* pourraient contenir des dérivés de la rutine et de la quercétine.

Une deuxième hydrolyse acide a été réalisée à la suite de la première qui donne les résultats du tableau 5 sur les mêmes extraits utilisés précédemment (figure 3). Nous avons changé de système de solvants pour mieux séparer les aglycones des sucres.



Tache 1 : Quercétine
Tache 2 : Rutine
Tache 3 : Extraits hydrolysés

BAW : butanol ; acide acétique ; eau (4 / 1 / 5 ; v / v)

Figure 34 : Chromatogramme des hydrolysats méthanolique et d'acétate d'éthyle de *G. senegalensis* : deuxième hydrolyse

Tableau 25 : Résultat des différents tests de la CCM du deuxième hydrolysats

Plantes	Extraits	Références frontales	Colorations obtenues après migration et pulvérisation des plaques CCM et/ou détection UV
<i>G. senegalensis</i>	Hydrolysats	0,80	Jaune-orangée

L'analyse du chromatogramme (figure 4) et des résultats du tableau 6 révèlent la disparition de la plupart des taches observées sur le chromatogramme de la figure 3 surtout celle de la rutine. Cela pourrait s'expliquer par le fait que la rutine ait perdu tous ses sucres donnant ainsi naissance à un dérivé la quercétine (figure 4). A la suite des deux hydrolyses une analyse par UV-visible des hydrolysats a été réalisée.

3.3.2. Identification de composés par spectrométrie UV-visible

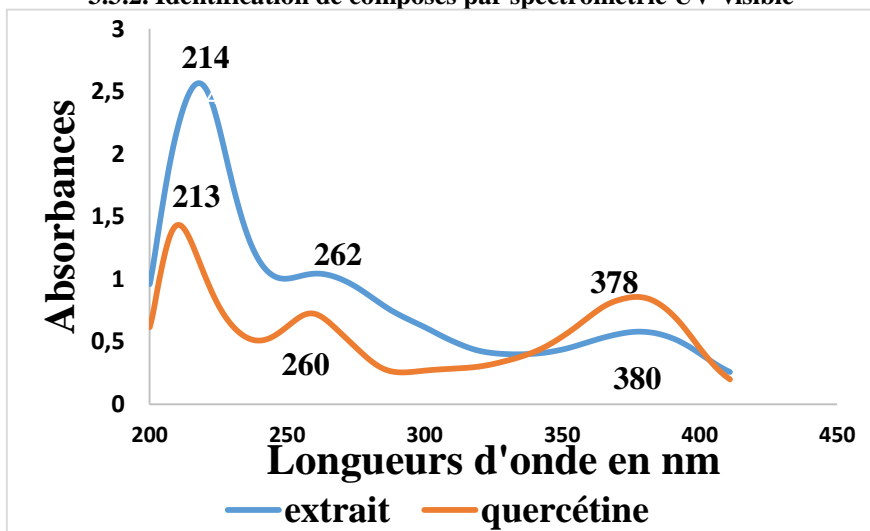


Figure 35 : Spectres UV-visibles des hydrolysats *G. senegalensis* (méthanol + acétate d'éthyle) et de la quercétine superposés.

L'analyse des spectres UV-visibles montre que les extraits hydrolysés de *G. senegalensis* absorbent pratiquement aux mêmes longueurs d'ondes que la quercétine. Cela s'explique par le fait que les extraits méthanolique et d'acétate d'éthyle de *G. senegalensis* pourraient contenir des dérivés de la quercétine.

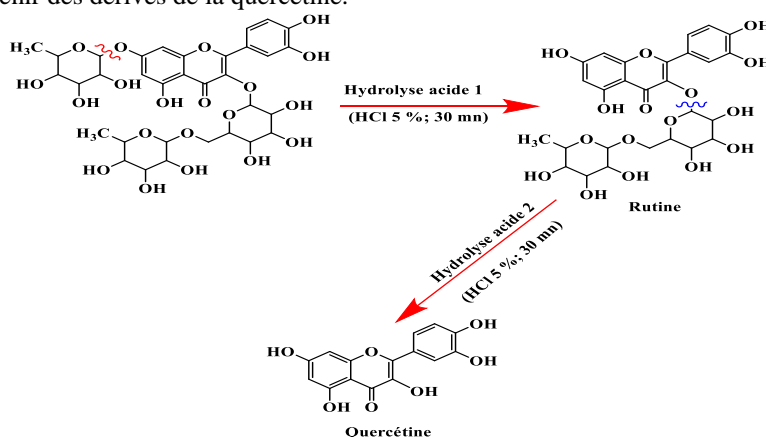


Figure 36 : Schéma récapitulatif (Hydrolyse acide, CCM et UV-visible)

3.4. Evaluation de la teneur en composés phénoliques des extraits

La teneur en composé phénolique totale ainsi que les teneurs en certaines molécules polyphénoliques (Flavonoïdes) ont été évaluées dans les extraits par la méthode colorimétrique utilisant le spectrophotomètre.

3.4.1. Evaluation de la teneur en composés phénoliques totaux

Les teneurs en composés phénoliques totaux ont été évaluées par la méthode de Folin-Ciocalteu. Les résultats sont consignés dans le tableau 7 et sont exprimés μg d'EAG/mg d'extraits sec. Ces résultats sont obtenus en rapportant les absorbances lues sur l'équation $y = 16,657x + 0,0781$; $R^2 = 0,996$ de la courbe-étalon établie à partir de l'acide gallique utilisé comme référence. L'extrait au méthanol présente la meilleure teneur ($165,90 \pm 0,75$) en composés phénoliques suivi de l'extrait à l'acétate d'éthyle ($146,99 \pm 0,99$). La plus faible teneur est obtenue avec l'extrait à l'hexane ($14,46 \pm 0,09$).

De ces résultats le méthanol semble le meilleur solvant d'extraction des composés phénoliques des feuilles de *G. senegalensis* pour d'éventuelles études approfondies des composés phénoliques telles que la caractérisation et la purification.

Tableau 26 : Teneurs en composés phénoliques totaux (TCP) des extraits aux solvants des deux (2) plantes.

Plantes	Extraits	TCP (μg EAG) /mg
<i>Guiera senegalensis</i>	Eau	$40,46 \pm 0,18$
	Méthanol	$165,90 \pm 0,75$
	Acétate d'éthyle	$146,99 \pm 0,99$

Dichlorométhane	21,80 ± 0,06
Hexane	14,46 ± 0,09

3.4.2. Evaluation de la teneur en flavonoïdes totaux (TFT)

La TFT des différents extraits est exprimée en µg d'Equivalents de quercétine (µg EQ) par mg d'extrait sec à partir de l'équation de la courbe-étalon ($y = 12,485x + 0,0854$; $R^2 = 0,9918$). Les valeurs des teneurs sont consignées dans le tableau 8.

Tableau 27 : Teneurs en flavonoïdes totaux (TFT) d'extraits au solvant de *G. senegalensis*

Plantes	Extraits	TFT (µg EQ) /mg
<i>Guiera Senegalensis</i>	Eau	66,78 ± 0,046
	Méthanol	17,58 ± 0,12
	Acétate d'éthyle	97,30 ± 0,60
	Dichlorométhane	14,86 ± 0,08
	Hexane	7,33 ± 0,03

Les résultats montrent que les teneurs en flavonoïdes totaux des extraits varient de **7,33 à 97,30 µg EQ/mg** d'extrait sec respectivement pour les extraits à l'hexane et à l'acétate d'éthyle de *G. senegalensis*. L'extrait d'acétate d'éthyle présente la meilleure teneur en flavonoïdes totaux pour la plante.

L'analyse des résultats montre que les teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes totaux des extraits obtenus avec des solvants de polarité croissante varient en fonction du solvant. Il ressort que l'extrait au méthanol a la teneur en composés phénoliques totaux la plus élevée suivi de celui à l'acétate d'éthyle.

Le tableau 8 montre une teneur plus élevée en flavonoïdes totaux dans l'extrait à l'acétate d'éthyle pour la plante comparativement aux extraits aqueux et au méthanol. Plusieurs études ont montré que la teneur en composés phénoliques des extraits dépendait du solvant d'extraction [15] [16] [17]. Par ailleurs, il a été rapporté que l'utilisation de différents systèmes de solvants donnait une large variation des concentrations des composés phénoliques dans les extraits [18]. Bien que les flavonoïdes soient des composés phénoliques, un extrait qui contient la meilleure TCP ne possède pas nécessairement le meilleur taux en flavonoïdes. En effet, les composés phénoliques étant un ensemble dans lequel les flavonoïdes s'y trouvent, d'autres molécules qui ne sont pas des flavonoïdes (Acides phénols, lignanes, tanins) pourraient expliquer ces différences observées. En outre, certaines substances organiques non phénoliques telles que les sucres, les amines aromatiques, le dioxyde de soufre, l'acide ascorbique, les acides organiques et les ions Fe (II) réagissent avec le réactif de F-C [6]. On pourrait donc dire que la forte teneur en composés phénoliques dans l'extrait au méthanol de *G. senegalensis* serait due à d'autres molécules phénoliques autres que les flavonoïdes ou à certaines molécules non phénoliques.

L'ensemble des résultats du screening chimique montre que nos extraits renferment majoritairement des composés phénoliques (flavonoïdes et tanins).

Plusieurs études ayant montré les propriétés biologiques des substances bioactives, nous pouvons donc émettre l'hypothèse que la présence de ces groupes chimiques pourrait conférer certaines propriétés biologiques telles que les propriétés antifongiques et antiparasitaires aux extraits.

3.5. Teneurs en alcaloïdes totaux (TAT)

La TAT des échantillons est exprimée en µg d'Equivalent de quinine (µg Eq) à partir de l'équation de la courbe ($y = 0,0291x + 0,056$; $R^2 = 0,9977$). Les valeurs sont présentées dans le Tableau 9.

Tableau 28: Teneurs en alcaloïdes totaux (TAT) d'extraits au solvant de *G. senegalensis*

Plantes	Extraits	TAT (µg Eq) /mg
<i>Guiera Senegalensis</i>	Eau	233,37 ± 0,88
	Méthanol	348,84 ± 1,73
	Acétate d'éthyle	329,00 ± 1,04
	Dichlorométhane	387,95 ± 0,30
	Hexane	346,44 ± 1,14

L'analyse des résultats montre que les teneurs en alcaloïdes totaux des extraits obtenus avec des solvants de polarité croissante varient également en fonction du solvant. Il ressort que l'extrait au dichlorométhane possède la teneur en composés alcaloïdiques totaux la plus élevée suivi de celui au méthanol.

En effet, ces teneurs varient de **233,37 à 387,95 µg Eq/mg** d'extrait sec respectivement pour les extraits aqueux et au dichlorométhane de *G. senegalensis*

Le tableau 9 montre une teneur plus élevée en alcaloïdes totaux dans les extraits au dichlorométhane de la plante comparativement aux autres extraits. Ainsi, les alcaloïdes majoritaires présents dans *G. senegalensis* auraient plus d'affinités avec le dichlorométhane. Plusieurs études ont montré que dans les plantes les alcaloïdes sont soit sous formes de sel, dans ce cas soluble dans l'eau, ou soit sous forme basique, donc solubles dans les solvants apolaires [9].

Des études menées sur *Balanites aegyptiaca* ont montré que la teneur en alcaloïdes varie suivant l'âge de l'organe. Les jeunes feuilles renferment moins d'alcaloïdes que les vieilles feuilles [19]. Ainsi le processus de production des alcaloïdes au cours du développement de la plante peut varier au sein du même organe d'un stade à un autre. En effet, l'épuisement successif joue un grand rôle dans la quantité des métabolites secondaires. En fonction de la polarité des molécules, chacune pourrait être extraite par un des solvants. Dans notre cas le dichlorométhane semble le mieux indiqué pour l'extraction des alcaloïdes de la plante. Nous pouvons dire que les alcaloïdes présents dans ces extraits sont sous forme basique [9].

3.5. Teneur en antioxydant totaux (TAO)

La teneur en antioxydants dans les différents extraits a été évaluée par la méthode du DPPH. Les résultats sont présentés par le tableau 10.

Tableau 29 : Les teneurs en antioxydant totaux (TAOT) d'extraits au solvant de *G. senegalensis*

Plantes	Extraits	TAOT (mg ET /g)
<i>Guiera Senegalensis</i>	Eau	159,81 ± 1,61
	Méthanol	107,04 ± 0,33
	Acétate d'éthyle	105,08 ± 0,48
	Dichlorométhane	20,59 ± 0,25
	Hexane	17,74 ± 0,05

Les résultats montrent que les teneurs en antioxydant totaux des extraits de *G. senegalensis* varient de **17,74 à 159,94 mg ET/g** d'extraits sec respectivement pour les extraits à l'hexane et aqueux (Tableau 10).

L'analyse des résultats montre que les teneurs en antioxydant totaux des extraits obtenus avec des solvants de polarité croissante varient en fonction du solvant. Il ressort que l'extrait aqueux de la plante possède la teneur en antioxydant la plus élevée suivi de celui au méthanol (tableau 10). Nos résultats sont en accord avec la littérature qui stipule que certaines molécules antioxydantes telles que les composés phénoliques seraient solubles dans l'acétate d'éthyle, le méthanol et l'eau. Cela suivant le degré de substitution de l'aglycone centrale. Les plus glycosylés sont soluble dans le méthanol et l'eau [6]. Ces résultats pourraient s'expliquer par le fait que l'extrait aqueux soit riche en composés phénoliques (flavonoïdes). En effet, les composés phénoliques (flavonoïdes) issus des plantes possèdent des propriétés antioxydantes [11].

Muhammad et al. (2018) [13] ont réalisé une étude sur les activités de piégeage des radicaux libres 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) des extraits méthanoliques et aqueux de feuilles *G. Senegalensis*. Les deux extraits présentaient une activité antioxydante.

CONCLUSION

Notre étude a porté sur l'analyse phytochimique d'une plante médicinale utilisée dans la prise en charge des maladies prioritaires en particulier les parasitoses (paludisme) au Burkina Faso

L'analyse qualitative (test en tube, CCM, UV-visible) a révélé que les extraits de *G. senegalensis* renferment majoritairement des composés phénoliques (tanins et flavonoïdes) et des alcaloïdes, des stérols et triterpène. Les résultats de ces analyses (UV-visible) nous ont fait constater la présence d'un flavonoïde de type flavonols (la quercétine) vers les bandes d'absorption 262 nm et 378 nm dans les extraits méthanolique et d'acétate d'éthyle de *G. senegalensis*. L'analyse quantitative a montré que la teneur la plus élevée en composés phénoliques obtenue avec le méthanol est de **165,90 µg d'EAG/mg** d'extrait sec. Cependant, la teneur la plus élevée en alcaloïdes totaux a été obtenue avec l'extrait au dichlorométhane et s'estime à **387,95 µg Eq/mg** d'extrait sec. De ces résultats, il ressort que le méthanol et le dichlorométhane sont les solvants les mieux indiqués pour extraire respectivement les composés phénoliques et les alcaloïdes.

Les antioxydants ont également fait l'objet de notre étude ; il a été question de leur teneur dans les différents extraits de notre plante. A l'issue de la détermination de cette teneur, il ressort que l'extrait aqueux (**159,94 mg ET/g** d'extrait sec) possède la teneur la plus élevée en antioxydant. La richesse en composés phénoliques (flavonoïdes) pourrait expliquer ces résultats.

L'analyse des résultats nous permet de dire de *G. senegalensis* que la pathologie soignée est en accord les principes actifs retrouvés dans les différents extraits. En effet, les travaux de Tine et al en 2019 [13] sur *G. senegalensis* ont montré que les principes actifs responsables de la prise en charge du paludisme sont les alcaloïdes. Ainsi, pour cette plante étudiées les principes actifs retrouvés dans les extraits sont en accord avec les pathologies soignées selon les enquêtes ethnobotaniques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] D. Dianou, J.-N. Poda, L. G. Savadogo, H. Sorgho, S. P. Wango, et B. Sondo, Parasitoses intestinales dans la zone du complexe hydroagricole du Sourou au Burkina Faso, *Vertigo - Rev. Électronique En Sci. Environ.*, n° Volume 5 Numéro 2, Art. n° Volume 5 Numéro 2, nov. 2004, doi : 10.4000/vertigo.3369.
- NSUADI MANGA Francine³, KABWAYI MULEMA Papy¹, JUAKALI SKV Jean-Jeannot², Analyse des prescriptions médicales d'antipaludiques à l'Hôpital Général de Reference de la Makiso-Kisangani, Université de Kinshasa, p. Vol 10(2) : 432-435, décembre 2020.
- V. Hammiche, R. Merad, M. Azzouz, et P. GOETZ, *Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen*. Springer Paris, 2013.
- J. Zhang, S. Li, et K. Hashimoto, R (-) -ketamine shows greater potency and longer lasting antidepressant effects than S (+) -ketamine, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, vol. 116, p. 137-141, janv. 2014, doi : 10.1016/j.pbb.2013.11.033.
- I. Khalid, T. J. Khalid, M. R. Qabajah, A. G. Barnard, et I. A. Qushmaq, Healthcare Workers Emotions, Perceived Stressors and Coping Strategies During a MERS-CoV Outbreak, *Clin. Med. Res.*, vol. 14, n° 1, p. 7-14, janv. 2016, doi : 10.3121/cmr.2016.1303.
- Rémy Kindanloun BATIONO, Étude phytochimique et évaluation de propriétés biologiques des extraits de différents organes de *Cymbopogon giganteus*, Joseph KI Zerbo, Burkina faso.
- Aline Lamien-Meda, Polyphenol Content and Antioxidant Activity of Fourteen Wild Edible Fruits from Burkina Faso, 2008.
- M. Ajanal, M. Gundkalle, et S. Nayak, Estimation of total alkaloid in Chitrakadivati by UV-Spectrophotometer, *Anc. Sci. Life*, vol. 31, p. 198-201, avr. 2012, doi : 10.4103/0257-7941.107361.
- M. Badiaga, Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali, phdthesis, Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II, 2011.
- M. L. Willcox et G. Bodeker, Traditional herbal medicines for malaria, *BMJ*, vol. 329, n° 7475, p. 1156-1159, nov. 2004, doi : 10.1136/bmj.329.7475.1156.
- Aboubacar Diallo, Etude de *Guiera senegalensis* J. f. Gmel (combretaceae) utilisée dans le traitement traditionnel de l'hypertension artérielle au Mali, université des sciences de Bamako, Mali, 2018.
- OBAME ENGONGA Louis Clément, Etude Phytochimique, Activités Antimicrobiennes et Antioxydantes de Quelques Plantes Aromatiques et Médicinales Africaines, Joseph KI Zerbo, 2009.
- [13] Yoro TINE, Revue bibliographique sur la composition chimique et les activités biologiques de *Guiera senegalensis* J.F. Gmel. (Combretaceae), 2019.
- Yssouf KARANGA, Etudes phytochimiques et évaluation des propriétés antifongiques de *Euphorbia hirta* L. N, Joseph KI Zerbo, 2018.
- M. Badiaga, Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali, PhD Thesis, Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II, 2011.
- P. Ribéreau-Gayon, *Les Composés phénoliques des végétaux* : par Pascal Ribéreau-Gayon... Dunod, 1968.
- E. Palé, Contribution à l'étude des composés anthocyaniques des plantes : Cas de *Hibiscus sabdariffa*, *Lansea microcarpa*, *Vigna subterranea* et *Sorghum caudatum* du Burkina Faso, PhD Thesis, Ph. D. Thesis, Université de Ouagadougou, Ouagadougou, 1998.
- A. Héma, Etude de molécules bioactives isolées de plantes du Burkina Faso, PhD Thesis, Thèse de doctorat unique. Université de Ouagadougou 170 pages, 2010.
- I. Togola *et al.*, Evaluation de la teneur en alcaloïdes totaux à différents stades de développement de *Datura innoxia* Mill., une plante utilisée dans la médecine traditionnelle au Mali, vol. 9, p. 200-207, août 2019.

Identification par HPLC-MS de trois flavonoïdes majeurs dans l'extrait colorant textile des feuilles sèches de *Anogeissus leiocarpus* et pratique tinctoriale

Benjamin Bazie^{1(*)}, Adama Hema¹, Bazoin Sylvain Raoul Bazie², Elie Kabré², Eloi Palé¹, Pierre Duez³, Mouhoussine Nacro¹

¹ Laboratoire de Chimie Organique et Physique Appliquées, Département de Chimie, UFR-SEA, Université Joseph KI-ZERBO, 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso

² Laboratoire national de santé publique (LNSP), 09 BP 24, Ouagadougou 09, Burkina Faso

³ Service de Chimie Thérapeutique et de Pharmacognosie, Université de Mons, 25 Chemin du Champ de Mars, 7000 Mons, Belgique

(*) : Auteur correspondant ; email: bazie.benjamin@yahoo.fr

Résumé

Disposer de données scientifiques utiles à l'orientation des pratiques tinctoriales artisanales et industrielles pour assurer la protection de l'environnement, la santé des artisans et des consommateurs demeure une préoccupation majeure pour un grand nombre d'acteurs. Des travaux d'identification structurale utilisant des méthodes chromatographiques et spectrales ont été réalisés sur l'extrait aqueux total de feuilles d'*A. leiocarpus*. Le profil chromatographique HPTLC du colorant a montré que l'extrait de feuilles d'*A. leiocarpus* contient des flavonols. Les vibrations d'élongation ν_{O-H} et ν_{C-O} respectivement des alcools et des éthers oxydes dans l'infra-Rouge témoignent de la présence de molécules tinctoriales de type flavonique qui contribuent aux nuances finales en pratique tinctoriale. La chromatographie liquide haute performance couplée à la spectroscopie de masse a révélé la présence de flavonoïdes, majoritairement, tels que la quercétine 3-*O*-rhamnoside, la quercétine 3-*O*-glucuronide et le kaempférol 3-*O*-hexoside. Les techniques de pratique tinctoriale appliquées aux écheveaux de fibres de coton ont abouti à des nuances de couleurs variant de l'anis au vert chartreuse. Le colorant textile des feuilles d'*A. leiocarpus* peut être classé dans le groupe des colorants métalliques au regard des résultats liés à l'utilisation de mordants tels que l'alun, le sulfate de fer et le sulfate de cuivre hydratés.

L'identification formelle des structures des molécules colorantes par l'appui de la RMN et la vérification de l'innocuité du colorant textile sont des perspectives à réaliser.

Mots clés : Flavonoïdes, HPTLC, CLHP MS-MS, pratique tinctoriale.

HPLC-MS identification of three major flavonoids in the textile dye extract from dried leaves of *Anogeissus leiocarpus* and tinctorial practice

Abstract

Having scientific data useful for guiding artisanal and industrial tinctorial practices to ensure the protection of the environment and the health of artisans and consumers remains a major concern for a large number of actors. Structural identification work using chromatographic and spectral methods was carried out on the total aqueous extract of leaves of *A. leiocarpus*. The HPTLC chromatographic profile of the dye showed that the extract of the *A. leiocarpus* leaves contains flavonols. The elongation vibrations ν_{O-H} and ν_{C-O} respectively of alcohols and oxide ethers in the infra-Red testify to the presence of flavonic-type dye molecules which contribute to the final shades in tinctorial practice. High-performance liquid chromatography coupled with mass spectroscopy revealed the presence of flavonoids, mainly, such as quercetin 3-*O*-rhamnoside, quercetin 3-*O*-glucuronide and kaempferol 3-*O*-hexoside. Tinctorial practice techniques applied to skeins of cotton fibers have resulted in shades of color ranging from anise to chartreuse green. The textile dye extracted from *A. leiocarpus* leaves can be classified in the group of metal dyes with regard to the results related to the use of mordants such as alum, iron sulphate and copper sulphate hydrates.

Formal identification of the structures of the dye molecules by the support of the NMR and the verification of the safety of the textile dye are perspectives to be achieved.

KEYWORDS : Flavonoids, HPTLC, HPLC-MS/MS, dyeing.

1. Introduction

La nature a toujours renouvelé pour notre plaisir les splendeurs multicolores de ses parures, nous amenant à reconnaître la richesse des cadeaux offerts par la flore ^[1].

En Europe, au XIX^e siècle, les industries textiles ont acquis d'énormes quantités de colorants facilement disponibles. Cette situation a déclenché l'invention de colorants synthétiques, offrant une large gamme de nouvelles couleurs à moindre coût, et donnant de meilleures propriétés aux matières tinctoriales ^[2]. L'Afrique de l'Ouest, où il n'existe pas de cadre légal et réglementaire pour l'importation et l'utilisation des colorants, est aujourd'hui un vaste marché pour l'élimination des colorants synthétiques même les plus toxiques interdits en Europe.

À ce jour, les colorants synthétiques restent la principale option choisie pour teindre les textiles, malgré les risques potentiels pour la santé et l'environnement, car certains d'entre eux auraient des effets cancérigènes et cytotoxiques ^[3, 4, 5, 6, 7]. Cependant, dans certaines parties du monde, cette découverte a entraîné une

recrudescence de l'utilisation de colorants d'origine naturelle pour remplacer, au moins en partie, les colorants synthétiques. Les chercheurs s'intéressent de plus en plus aux colorants naturels en raison de leur biodégradabilité et de leur plus grande compatibilité. Ce regain d'intérêt pour les teintures végétales s'inscrit également dans une préoccupation globale de développement d'une production écologique et durable, y compris dans le secteur textile [8].

Cette diversité de couleurs offerte par la flore a toujours orienté les choix pour la pratique des teintures capables d'offrir des gammes de teintes fortes appréciées des consommateurs.

Les colorants naturels à usage textile d'aujourd'hui, à travers la teinture et ses techniques [9], continuent de livrer leurs secrets et font l'objet de recherches approfondies pour apporter une garantie de la santé des utilisateurs et des consommateurs.

La diversité de ces gammes de nuances obtenues dans la pratique tinctoriale puise sa profonde compréhension dans la nature des molécules organiques responsables des pigments des végétaux dans leur globalité.

La production de fibres de coton de qualité et les techniques de transformation de ces fibres au Burkina Faso est une priorité nationale [10] et cela revêt une importance primordiale pour l'accompagnement et la maîtrise des techniques de pratiques tinctoriales notamment artisanales.

Connaître les structures des molécules responsables de la pigmentation et de la co-pigmentation au niveau de la plante reste un enjeu qui peut justifier ou favoriser l'amélioration des protocoles de pratique tinctoriale [11, 12]. Basé sur l'identification de molécules majeures par des méthodes chromatographiques et spectrales (HPLC-MS, MS/MS et FT-IR), ce travail vise à teindre des fils de coton à l'aide d'extrait de feuilles d'*A. leiocarpus*. Par les phénomènes de co-pigmentation [13] avec de nombreuses autres molécules (tanins [14], acides phénoliques...) et l'utilisation de mordants chimiques non toxiques (alun, sulfates de fer et cuivre hydraté), ces flavonoïdes ont contribué à l'obtention de diverses nuances de couleur en teinture réalisée sur des écheveaux de fil de coton.

2. Matériels et méthodes

2.1. Extraction

250 g de poudre obtenue à partir de feuilles séchées d'*Anogeissus leiocarpus*, ont été extraites à l'eau dans un soxhlet [15]. L'extraction à l'eau a été justifiée par la préservation partielle des pratiques actuelles des artisans teinturiers du Burkina Faso. L'extrait a été concentré par évaporation puis congelé et séché avec un lyophilisateur de marque ALPHA 1-2 LDplus.



2.3. High Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC) des extraits colorants

Le profil chromatographique du colorant naturel a été réalisé par chromatographie sur couche mince à haute performance (HPTLC) [16-18]. Le principe était de déposer 3 µL d'extrait avec des standards sous forme de fines bandes de 8 mm de long, sur une plaque de gel de silice F254 HP 20x10 cm à l'aide d'un appareil CAMAG Automatic TLC AutoSampler 4.

Après une étape de saturation pendant 20 minutes, le développement de la plaque a été réalisé en utilisant la phase mobile acétate d'éthyle-acide formique-acide acétique-eau (100 : 11 : 11 : 26 v/v).

Pour observer les polyphénols en général et les flavonoïdes en particulier, deux révélateurs spécifiques, successivement le 2-aminodiphénylborate (1 g dans 100 mL de méthanol) et le polyéthylène glycol (5 g dans 100 mL d'éthanol à 96 %), ont été utilisés pour pulvériser la plaque qui est ensuite chauffé à 110 °C pendant 3 minutes.

2.4. Analyse de colorant par infra-rouge à transformée de Fourier (IR-TF)

L'utilisation directe de colorants naturels bruts se justifie en partie par la difficulté d'isoler des quantités suffisantes de colorants pour la teinture textile, compte tenu de la complexité moléculaire des mélanges au niveau des substances naturelles. Par exemple, des spectres infrarouges (IR) sont souvent enregistrés sur des extraits bruts pour fournir un bref aperçu des fonctions chimiques présentes dans les extraits totaux, qui sont responsables de l'observation de diverses nuances de couleurs finales de matière textile teinte [19]. Ainsi, l'extrait total de colorant contenant des tanins, des flavonoïdes, des xanthonoïdes et d'autres composés est soumis à une analyse par spectrométrie infra-rouge à transformée de Fourier (IR-TF) de type TENSOR 27 pour l'identification des groupements fonctionnels présents dans les structures moléculaires.

2.5. CLHP-MS des flavonoïdes d'extrait colorant de *A. leiocarpus*

L'extrait colorant des feuilles d'*A. leiocarpus* contenant des flavonoïdes, préalablement filtré à l'aide d'une seringue (type membrane d'acétate de cellulose 25 mm et 0,45 µm) est caractérisé par chromatographie liquide

à haute performance (CLHP) couplée à la spectrométrie de masse (MS) au Laboratoire National de la Santé Publique (LNSP) à Ouagadougou (Burkina Faso).

Les ions sont contrôlés en MS/MS en mode d'ionisation positive (ESI). La séparation CLHP est réalisée sur une colonne Zorbax sb C18 (250 x 4,6 mm ; 5 µm) ^[20, 21, 22].

La phase mobile est constituée de deux solvants A et B afin d'atteindre un gradient d'éluion avec un débit de 0,6 mL/min. Le solvant A est constitué d'acétonitrile (ACN), le solvant B est composé d'eau et d'acide formique à 5 % (v/v). L'éluion a commencée par une étape de 95 à 90 % de solvant A pendant 5 minutes puis le gradient a été maintenu à 90 % de A pendant 10 minutes. Puis de 90 % à 88 % de A en 10 minutes, à 85 % de A en 10 minutes, 82 % de A en 15 minutes, à 75 % de A en 10 minutes, 70 % de A en 20 minutes et enfin revenu à 95 % de A en 10 minutes (le temps total était de 90 min). Le volume d'injection était de 50 µL. La phase mobile a ensuite été injectée dans la source d'ionisation électrospray.

Les données ont été fournies par Agilent Technologies, Inc. 2012 LC/MS Data Acquisition for 6400 Series Triple Quadrupole (version B.06.00 Build 6.0.6025.0). La température du gaz (N₂) était de 200°C, le débit de gaz de 10 L/min et la pression du nébuliseur de 15 psi. Dans l'expérience, le nébuliseur et le gaz de collision étaient de l'azote. Le spectromètre de masse scanne tous les ions avec une valeur m/z comprise entre 100 et 1100. La comparaison des temps de rétention et des poids moléculaires des fragments observés a ainsi permis l'identification des molécules de flavonoïdes. En effet, le principe était d'injecter l'échantillon en solution à un débit constant d'environ 0,6 µL/min dans un capillaire conducteur. Un gaz de désolvatation (N₂ sec) avec un débit approximatif de 500 L/h, entoure le capillaire et favorise la vaporisation de l'échantillon. Lorsque le potentiel du capillaire est chargé positivement, les ions positifs générés seront analysés et inversement. Les ions générés à l'intérieur de l'appareil sont attirés vers le cône d'extraction où ils seront fragmentés. Ces fragmentations se poursuivront dans la cellule de collision lors des analyses par spectrométrie de masse en tandem ^[23, 24].

Cette caractérisation des flavonoïdes en ESI-MS/MS était basée sur la génération dans la source d'ionisation des motifs aglycones de chaque composé flavonoïde. En conséquence, l'analyse MS en tandem des ions moléculaires a abouti à différents ions fragmentés spécifiques à chaque type d'aglycone.

2.6. Pratique tinctoriale

2.6.1. Débouillissage

Elle consistait à débarrasser la matière textile (écheveaux en fil de coton) de la cire, de la pectine et d'autres saletés pouvant influencer la fixation de la matière colorante ^[25, 26].

Environ 70 g de fil de coton sous forme d'écheveau ont été plongés dans 700 mL d'eau portée presque à ébullition (environ 90 °C), auxquels sont ajoutés 700 mg de savon neutre (savon SN CITEC ou savon de Marseille) et 3,5 g de carbonate de sodium.

Après 1 heure d'ébullition, 0,7 mL d'acide acétique est ajouté pour la neutralisation de la base. L'écheveau a ensuite été rincé abondamment à l'eau et lavé avec du savon neutre et séché dans une pièce.

2.6.2. Mordantage

Trois types de mordant ^[27, 28] ont été utilisés : l'alun [KAl(SO₄)₂, 12H₂O], le sulfate de fer hydraté (FeSO₄, 7H₂O) et le sulfate de cuivre hydraté (CuSO₄, 5H₂O).

140 mg de chaque type de mordants sont dissous dans 30 mL d'eau distillée chaude. Ensuite, de la soude (14 mg) est ajoutée pour la révélation des différents types d'ions et de leurs couleurs (Al³⁺ : blanc, Fe²⁺ : vert pâle, Cu²⁺ : bleu).

Une masse précise de petits écheveaux de fil (700 mg chacun) a été immergée dans chaque mélange tiède et l'ensemble a été conservé pendant 12 heures.

Les écheveaux sont ensuite retirés et fortement essorés et placés en confinement dans des sacs plastiques pendant 72 heures avant teinture.

2.6.3. Teinture de fil de coton avec l'extrait colorant de *A. leiocarpus*

Deux bains de teinture (acide et basique) ont été préparés et exploités pour la teinture d'écheveaux de fils de coton. Immersion d'écheveaux de fils non mordancés et mordancés (700 mg chacun) dans des bains acides et basiques du colorant des feuilles d'*A. leiocarpus*.

Le taux de teinture a été fixé à 4 % et aussi chaque bain a été obtenu en dissolvant 28 mg du colorant dans 14 mL d'eau distillée.

Après ajustement du pH à 4 pour le milieu acide et à 10 pour le milieu basique à l'aide du pH mobile (826 pH mobile/827 pH lab, Metrohm), chaque bain a été porté à une température d'environ 70°C avant immersion des écheveaux. Pour faciliter l'homogénéité de la teinture, des écheveaux ont été constamment agités dans chaque bain de teinture. Après 45 minutes, les écheveaux ont été retirés du bain de teinture et étalés à l'air libre dans la salle, puis 10 minutes plus tard ils ont été rincés abondamment et étalés à nouveau. Une heure plus tard, ils sont lavés au savon de Marseille et séchés en salle ^[29, 30, 31]. Le lavage au savon est l'un des premiers tests de résistance effectués sur des fibres et des tissus teints. D'autres tests tels que les tests à la lumière, à l'eau chlorée ou à la sueur sont des tests pour corroborer les résultats des tests de lavage.

L'évaluation de l'homogénéité du colorant a été faite à l'aide d'une loupe (loupe classique-noir, Grossissement : 3,5x, 5xØ50 mm, Ø60 mm, Ø75 mm) pour une observation attentive, ce qui a permis l'élaboration d'une échelle d'évaluation de l'homogénéité de la fixation, allant de 1 à 4 (1 : non homogène ; 2 : homogénéité moyenne ; 3 : assez bonne homogénéité ; 4 : très bonne homogénéité).

3. Résultats et discussion

Le colorant extrait des feuilles d'*A. leiocarpus* sur le plan chromatographique (HPTLC) et spectral (IR-TF), a montré la présence d'un sous-groupe de flavonoïdes (flavonol) caractérisé en partie par la détection de fonctions chimiques essentielles en IR-TF (**Figures 1 et 2**). Les colorants naturels, tels qu'utilisés dans la teinture naturelle, sont des mélanges complexes de molécules. Chaque molécule organique possède des fonctions chimiques qui lui confèrent des propriétés particulières. La partie la plus riche en informations et la plus accessible d'un point de vue expérimental est celle du moyen IR (de 4000 à 400 cm^{-1}). Dans ce domaine, les absorptions correspondant à des nombres d'onde inférieurs à 800 cm^{-1} forment une empreinte chimique des composés permettant de les reconnaître et celles supérieures à 800 cm^{-1} sont caractéristiques des liaisons chimiques présentes dans l'échantillon, ce qui permet l'analyse fonctionnelle et structurale [36]. Le spectre IR des extraits de colorants présente des bandes caractéristiques correspondant à des groupes fonctionnels spécifiques (**Figure 2**). Ainsi, le nombre d'onde observé à 3206 cm^{-1} caractérise une vibration d'élongation $\nu_{\text{O-H}}$ correspondant au groupe fonctionnel OH d'alcool lié. Les nombres d'onde à 1330 cm^{-1} et 1057 cm^{-1} correspondant à la vibration d'élongation $\nu_{\text{C-O}}$ témoignent de la présence d'un groupe fonctionnel C-O dans l'extrait, indiquant les fonctions d'esters ou d'éthers oxydes (**Figure 2**). Selon la littérature, *A. leiocarpus* ($\nu_{\text{O-H}}$: 3206 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C-O}}$: 1330 et 1057 cm^{-1}) contient des flavonoïdes appartenant aux sous-groupes des flavonols et des flavanols [32, 33].

La CLHP de l'extrait total de feuilles d'*A. leiocarpus* a présenté trois (03) pics essentiels dans l'étude des flavonoïdes [1 : RT = 42,4 min ; 2 : TR = 45,4 min ; 3 : TR = 56,7 min].

Les composés **1** et **3** sont des isomères dont l'ion moléculaire à m/z 449 (formule brute $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$), fragmenté en SM/SM, donne respectivement des ions secondaires à m/z 303 et 287 correspondant à des pertes respectives d'un rhamnose $[\text{M}+\text{H}-146]^+$ et d'un glucoside pouvant être du glucose ou du galactose $[\text{M}+\text{H}-162]^+$.

L'ion moléculaire à m/z 479 de formule brute $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_{13}$, correspondant au composé **2**, qui a subi une fragmentation en SM/SM, a produit un ion secondaire à m/z 303 suite à une perte d'un glucuronide $[\text{M}+\text{H}-176]^+$.

Les pics à m/z 449 des composés **1** et **3** seraient respectivement la quercétine 3-O-rhamnose et le kaempférol 3-O-glucoside. Le pic à m/z 479 du composé **2** correspondrait à la quercétine 3-O-glucuronide.

Ces composés flavonoliques en association avec d'autres composés phénoliques (tanins, acides phénoliques...) présents dans les feuilles d'*A. leiocarpus* tels que les acides 3,4,3'-tri-O-méthylflavellagique et son dérivé glucosylé (3,4,3'-tri-O-méthylflavellagique-4'- β -D-glucose), les leiocarpanes A et B glucuronomannanes, la castalagine [34-37] expliqueraient les différentes couleurs obtenues en pratique tinctoriale.

Ces composés hydroxylés, au-delà de l'association intermoléculaire, passent souvent par des métaux chélateurs (Al^{3+} , Fe^{2+} , Cu^{2+}) pour la création de complexes favorables à la fixation sur l'unité monomère (D-glucopyranose) de la cellulose des fibres de coton. Ces complexes se fixent préférentiellement sur les sites hydroxylés 2, 3 et 6 du D-glucopyranose [38, 39]. De plus, l'affinité des molécules de colorant avec la fibre cellulosique et leur fixation sur la fibre de coton, dépend de la nature acide ou basique du bain de teinture.

La pratique tinctoriale a permis l'obtention de nuances de couleur très différentes avec une assez bonne fixation et une assez bonne homogénéité.

La teinture (**tableau 3**) réalisée avec l'extrait de feuilles d'*A. leiocarpus* a donné lieu à une gamme de teintes caractéristiques (anis, anis tilleul, anis militaire, anis vert de gris, vert chartreuse...). Le facteur de qualité (FQ) basé sur le produit du degré de fixation par le degré d'homogénéité a permis d'obtenir des teintes fortes significatives en utilisant de l'alun en milieu acide, du sulfate de fer hydraté en milieu acide et basique et du sulfate de cuivre en milieu basique. La fixation des molécules de la matière colorante des feuilles d'*A. leiocarpus* nécessite l'intervention de mordants qui en font un colorant mordant ou métallifère.

4. Conclusion

Cette étude permet de comprendre que les feuilles d'*A. leiocarpus* contiennent des flavonoïdes qui, par voie intra- ou associations intermoléculaires, contribuent à l'obtention de nuances des couleurs dans la pratique tinctoriale. La teinture naturelle à partir des feuilles sèches d'*A. Leiocarpus*, dans un processus de teinture avec des sulfates d'alun, de fer et de cuivre comme mordants a permis l'obtention de différentes nuances de couleurs. Ces nuances expliqueraient l'affinité des flavonols tels que kaempférol 3-O-hexoside et quercétine 3-O-glucuronide avec les mordants utilisés (alun, sulfates de fer et cuivre). Cette affinité justifie donc la chélation de ces composés avec les sels métalliques (Al^{3+} , Fe^{2+} , Cu^{2+}) déjà fixé par mordantage sur la fibre de coton (cellulose) dont l'unité monomère est le D-glucopyranose où les groupes hydroxyle en positions 2, 3 et 6 (sites actifs) ont favorisés la chélation. Le colorant des feuilles d'*A. leiocarpus* peut être classé dans les groupes de colorants naturels à mordant ou métallifères.

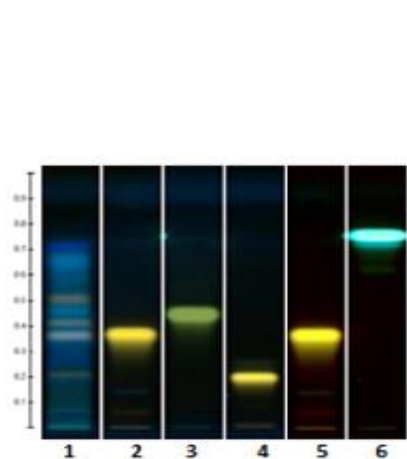


Figure 1 : Profil HPTLC des flavonoïdes d'extract d'*A. leiocarpus*

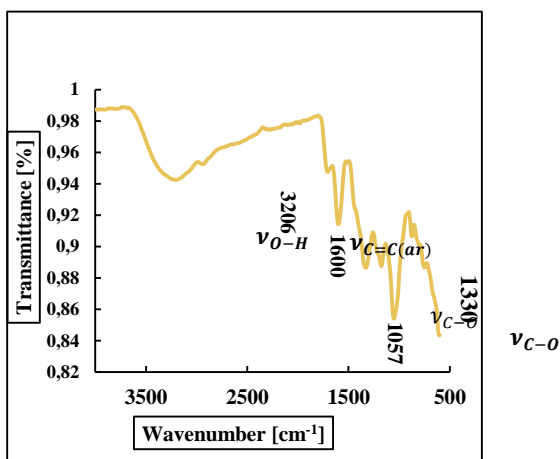


Figure 2 : Spectres FT-IR d'extract d'*A. leiocarpus*

d'*A. leiocarpus* à 366 nm

- 1 : *A. leiocarpus* ; 2 : Hypéroside (3-O-galactoside of quercétine) ;
- 3 : Isorhamnétine 3-O-glucoside ; 4 : Rutine ;
- 5 : Hypéroside (Quercétine 3-O-galactoside) ; 6 : Kaempférol

Tableau 2 : HPLC-MS/MS des principaux flavonoïdes

Pics	Temps de Rétention (min)	Formules	Ions moléculaires [M+H] ⁺ (m/z)	Ions Secondaires (m/z)	Composés proposés
<u>1</u>	42,4	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	449	303	Quercétine 3-O-rhamnose
<u>2</u>	45,4	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₃	479	303	Quercétine 3-O-glucuronide
<u>3</u>	56,7	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	449	287	Kaempférol 3-O-hexose

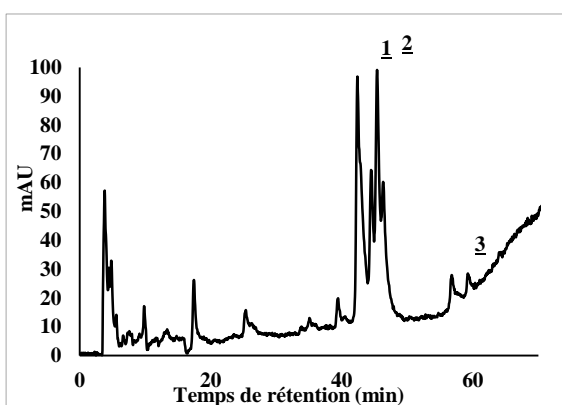


Figure 3 : Chromatogramme des flavonoides d'extract d'*A. leiocarpus*

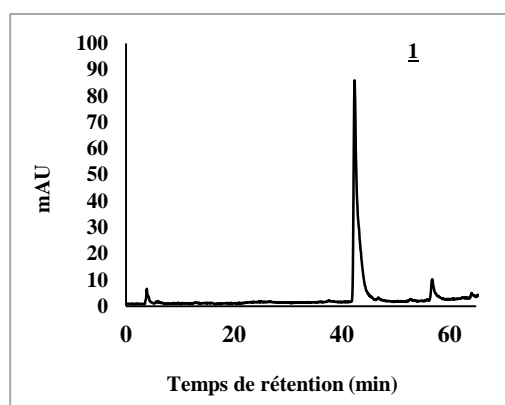


Figure 4 : Chromatogramme de l'ion moléculaire à m/z 449

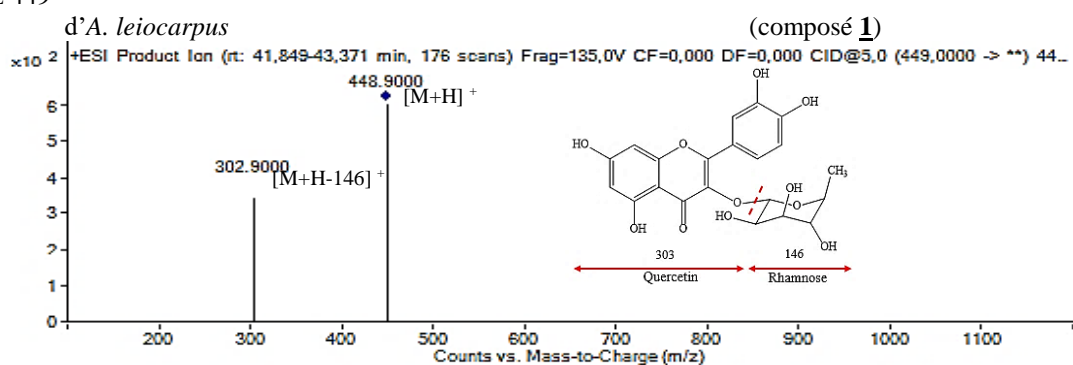


Figure 5 : Spectre ESI⁺ MS/MS du composé 1

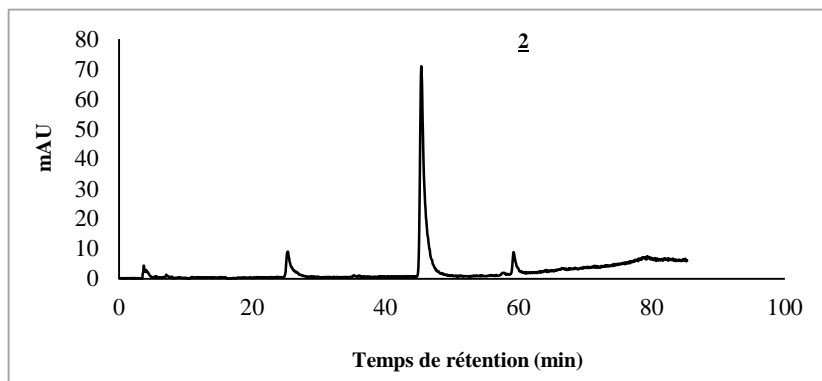


Figure 6 : Chromatogramme de l'ion moléculaire à m/z 479 (composé 2)

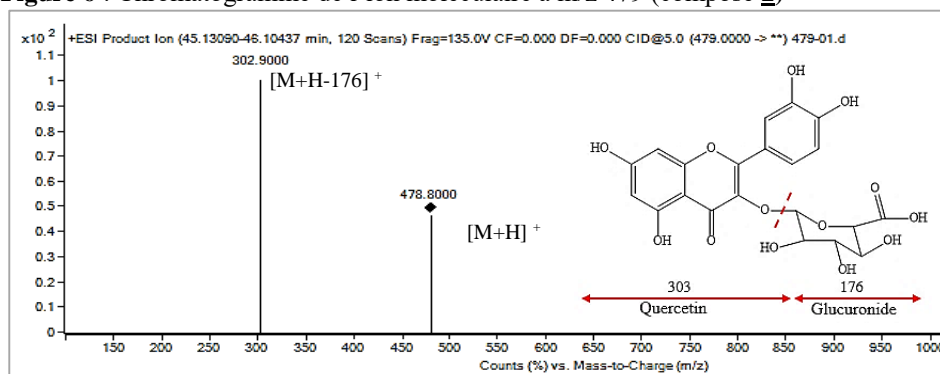


Figure 7 : Spectre ESI⁺ MS/MS du composé 2

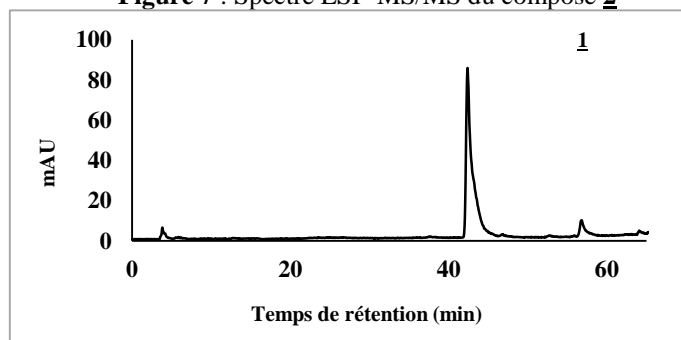


Figure 8 : Chromatogramme des composés 1 et 3 aux temps de rétentions RT = 42,4 et 45,4 min

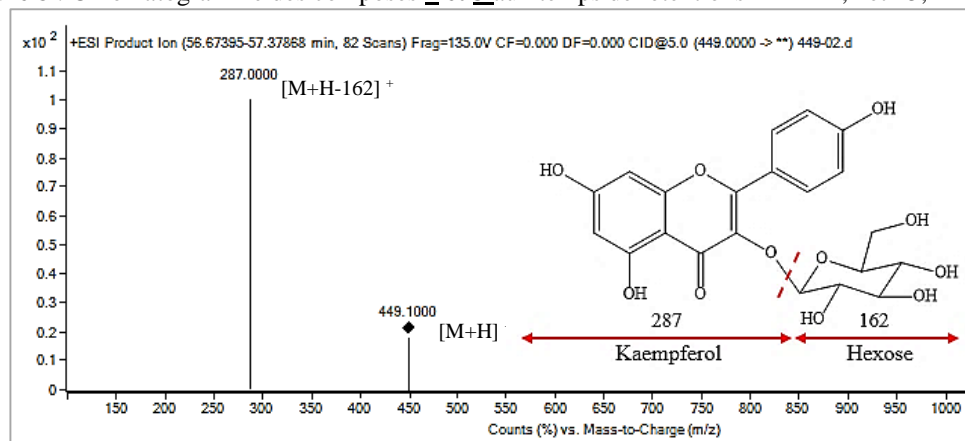












Figure 9 : Spectre ESI⁺ MS/MS du composé 3 (m/z 449)

Tableau 3 : Pratique tinctoriale : Anogeissus leiocarpus

	Sans mordant		Alun (KAl(SO ₄) ₂ , 12H ₂ O)		Sulfate de fer hydraté (FeSO ₄ , 7H ₂ O)		Sulfate de cuivre hydraté (CuSO ₄ , 5H ₂ O)	
	Acide	Basique	Acide	Basique	Acide	Basique	Acide	Basique
Bain de teinture	Acide	Basique	Acide	Basique	Acide	Basique	Acide	Basique
Fixation	2	2	3	3	3	3	3	3
Homogénéité	1	1	4	2	4	4	3	4
FQ = CFxCH	2	2	12	6	12	12	9	12
Qualité	<i>Mauvaise</i>	<i>Mauvaise</i>	<i>Excellente</i>	<i>Bonne</i>	<i>Excellente</i>	<i>Excellente</i>	<i>Très bonne</i>	<i>Excellente</i>
Nuance de couleurs	<i>Anis</i>	<i>Anis</i>	<i>Anis tilleul</i>	<i>Anis pistache</i>	<i>Anis militaire</i>	<i>Anis vert de gris</i>	<i>Olive</i>	<i>Vert Chartreuse</i>
Témoin								
Echeveaux teints								

Anis = Jaune verdâtre

Légende : **Fixation** (Echelle de 1 à 3) : 1 : non fixation ; 2 : fixation moyenne ; 3 : assez bonne fixation

Homogénéité (Echelle de 1 à 4) : 1 : non homogène ; 2 : homogénéité moyenne ; 3 : assez bonne homogénéité ; 4 : très bonne homogénéité.

FQ : facteur de qualité ; **CF** : coefficient de fixation ; **CH** : coefficient d'homogénéité – **FQ** ≤ 3 : Mauvaise qualité

FQ ∈]3 ; 6[: très moyenne ; **FQ** = 6 : bonne qualité ; **FQ** ∈]6 ; 9] : très bonne qualité ; **FQ** ∈]9 ; 12] : Excellente qualité

Références

- Erna Bächli-Nussbaumer (1979). Pratique des teintures végétales. Dessain et Tolra, p.9-127.
- Manuel Jesús Chan-Bacab, Patricia Sanmartín, Juan Carlos Camacho-Chab, Kahlia Beatriz Palomo-Ascanio, Hesby Emmanuel Huitz-Quim, Benjamín Otto Ortega-Morales. Characterization and dyeing potential of colorant-bearing plants of the Mayan area in Yucatan Peninsula, Mexico. *Journal of Cleaner Production* 91 (2015) p.191-200
- . Mansour, O. Boughzala, D. Dridi, D. Barillier, L. Chekir-Ghedira, and M. R., “Les colorants textiles sources de contamination de l’eau : CRIBLAGE de la toxicité et des méthodes de traitement,” *Rev. des Sci. l’eau*, vol. 24, no. 3, pp. 209–238, 2011, doi: 10.7202/1006453ar.
- . Ahmad, M. Afzal, M. Saleem, and S. M. Hassany, “Thermodynamics of the Adsorption of cobalt on Lead Dioxide from Aqueous Solution.,” *Adsorp.Sci. Technol.*, vol. 12, pp. 139–149, 1995.
- . Houas, H. Lachleb, M. Ksibi, E. Elaloui, J. M. Herrmann, and C. Guillard, “Photocatalytic degradation pathway of methylene blue in water.,” *Appl. Catal. B Environ.*, pp. 145–157, 2001.
- . J. Weber and E. H. Smith, “Activated Carbon Adsorption : The State of the Art.,” *Stud. Environ. Sci.*, vol. 29, pp. 455–492, 1986.
- A. H. Mollah and C. W. Robinson, “Pentachlorophenol adsorption and desorption characteristics of granular activated carbon - I. Isotherms.,” *Water Res.*, vol. 30, pp. 2901–2906, 1996
- Islam, S., Shahid, M., Mohammad, F., 2013. Perspective for natural product based agents derived from industrial plants in textile applications- a review. *J. Clean.Prod.* 57, p.2-18.
- Franziska Ebner, Romana Hasenöhrl (2018). Natural dyeing with plants, glorious colors from roots, leaves and flowers. p. 6-148.
- . Gérald Estur, Consultant-Banque mondiale (2008). Qualité et consommation du coton fibre en Afrique. p.1-87.
- . Eiichiro Ono, Miho Ruike, Takashi Iwashita, Kyosuke Nomoto, Yuko Fukui (2010). Co-pigmentation and flavonoid glycosyltransferases in blue veronica persica flowers. *Phytochemistry* 71, p.726-735.
- . Ez-zohra NKHILI (2009). Polyphénols de l’Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Université CADI AYYAD, Université D’Avignon et des pays de Vaucluse. p.96-230.
- . Amélie Dulac (2011). Marqueurs phénotypiques de la diversité des ressources génétiques du genre *Hydrangea*. Thèse de doctorat, Chimie analytique, Université d’Angers. p.22-26.
- . A. Sereme, J. Millogo-rasolodimby, S. Guinko, M. Nacro (2008). Propriétés thérapeutiques des plantes à tanins du Burkina Faso. *Pharmacopée et médecine traditionnelle Africaine.* 15 p.41-49.
- . K. Gopalasatheeskumar (2018). Significant role of soxhlet extraction process in phytochemical research. *Mintage Journal of Pharmaceutical & Medical Sciences.* Vol 7, Suppl 1. p.43-44.
- . Vanita P. Rode, Madhukar R. Tajne. A Validated Stability. Indicating High-Performance Thin-Layer Chromatographic Method for the Analysis of Pitavastatin in Bulk Drug and Tablet Formulation. *Asian J. Pharm. Ana.* 2018, 8 (1) 49-52. DOI : 10.5958/2231-5675.2018.00009.1.
- . I. Bros, M.-L. Soran, R. Domnica Briclu, S. Codruta Cobzac (2009). HPTLC Quantification of some flavonoids in Extracts of *Satureja hortensis* L. Obtained by Use Different Techniques. *Journal of Planar Chromatography* 22, p.25-28.
- . Preeti Tiwari, D.J. Sen, Rakesh K. Patel. Development and Validation of HPTLC Method for Quantification of Gallic acid and Catechin from *Draksharishta*. *Asian J. Research Chem.* 2013, 6 (3), 248-253.
- . Padma S. Vankar (2016). Handbook on Natural Dyes for Industrial Applications (Extraction of Dyestuff from Flowers, Leaves, Vegetables). Edit: National Institute of Industrial Research.106-E, Kamia Nagar, Delhi-110 007 (INDIA). p.472
- . Strack, D. and Wray, V (1994). The anthocyanins. *In The flavonoid, Advances in Research since 1986* (Harborne, J.B. ed.) Chapman and Hall, New York, p.1-22.
- . Lee, S.H. and Hong V (1992). Chromatographic analysis of anthocyanins. *J. Chromatography*, 624, p.221.
- . M. Karas, F.H.H (1988). Analytical chemistry. 60. p. 2229-2230.
- . Stage à CRMPO (1996). Méthodes Spectroscopiques d’Analyse, Université de Rennes 1. p.39-42.
- . M. Holcapek, P. Jandera, and p. Zderadicka (2001). High performance liquid chromatography-mass spectrometric analysis of sulphonated dyes and intermediates. *Chemistry, Medicine. Journal of chromatography A*, 926. p.175.
- . S. Pesnel (1), V. Pasquet (1, 2), A. Perwuelz (, 2), D. Hazard (3) and C. Dupuich (2012). Le mercerisage du coton améliore l’impact environnemental des chemises. *veramtex.com*, p1.
- . Hyun-Joo Song, Su-Mi Kim and Wha-Soon Song (2005). The Physical Properties and Dye ability of KOH Treated Cotton Fabrics. *J. Kor. Soc. Cloth. Ind.* Vol. 7, No. 1, p.91-95.
- . François Delamare et Bernard Monasse (2005). Le rôle de l’alun comme mordant en teinture. Une approche par simulation numérique : cas de la teinture de la cellulose à l’alizarine. *Centre Jean Bérard*, p.277-291.

- |. Ibrahim Abdullahi Umar (2013). Fastness Properties of Colorant Extracted from Tamarind Fruits Pods to Dye cotton and Silk Fabrics. *Journal of Natural Sciences Research*. p.61.
- |. Marie Marquet (2019). Guide des teintures naturelles, ‘l’autonomie par les livres’ p.1-4.
- |. Aurélia Wolff (2018). Teintures végétales, carnet de recettes et cahier d’inspirations. p.12-44.
- |. Virendra Kumar Gupta (2019). Fundamentals of Natural Dyes and Its Application on Textile Substrates. *Chemistry and Technology of Natural and Synthetic Dyes and pigments*, p.1-33.
- |. Barthélemy Attioua, Latifou Lagnika, Dodehe Yeo, Cyril Antheaume, Marcel Kaiser, Bernard Weniger, Annelise Lobstein, Catherine Vonthron-Sénécheau (2011). In vitro antiplasmodial and antileishmanial activities of flavonoids from *Anogeissus leiocarpus* (combretaceae). *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* 11 (2), p.1-6.
- |. E. Y. A. Salih, M. Kanninen, M. Sipi, O. Luukhanen, R. Hiltunen, H. Vuorela, R. Julkunen-Tiitto, P. Fyhrquist (2017). Tannins, flavonoids and stilbenes in extracts of African savanna woodland trees *Terminalia brownii*, *Terminalia laxiflora* and *Anogeissus leiocarpus* showing promising antibacterial potential. *South African Journal of Botany* 108, p.370-386.
- |. Nduji A.A. and Okwute S.K (1988). Co-occurrence of 3,3',4'-tri-O-methylflavellagic acid and 3,3'-di-Omethylellagic acid in the bark of *Anogeissus schimperi*. *Phytochemistry* 27(5) p.1548-1550.
- |. Adigun J.O., Amupitan J.O. and Kelly D., R (2000). Isolation and investigation of antimicrobial effect of 3,4,3'-Tri-O-methylflavellagic acid and its glucoside from *Anogeissus leiocarpus*. *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia* 14(2) p.169-174.
- |. Aspinall G.O. and Carlyle J.J (1969). *Anogeissus leiocarpus* gum. IV. Exterior chains of leiocarpan A. *J Chem Soc C* 5 :851-856.
- |. Chaabi M., Benayache S., Benayache F., N’Gom S., Kone’ M., Anton R., Weniger B. and Lobstein A (2008). Triterpenes and polyphenols from *Anogeissus leiocarpus* (Combretaceae). *Biochemical Systematics and Ecology* 36.p.59-62.
- |. U. Baumgarte, Mellind Textilber (2007). *Industrial Dyes: Chemistry, Properties, Applications*. vol. 44. p 163-267.
- |. Brent Smith, Rebecca Berger, Harold S Freeman (2006). High affinity, high efficiency fibre-reactive dyes. *Coloration technology* 122 (4). p. 187-193.

Evaluation de l'effet des extraits de feuilles de deux espèces de *Datura* sur la sécrétion de nitrites des macrophages murins

Issiaka Togola¹, Joudy Dougnon¹, Nouhoum Diarra¹, Mamadou Abdoulaye Konaré¹, Méminata Diakité¹,
Moussa Karembé², et Doulaye Dembélé³

¹Laboratoire de Biochimie Végétale, Alimentaire et de Biotechnologie (LBVA-B), Faculté des sciences et Techniques (FST),
Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB)

²Laboratoire d'Ecologie Tropicale (LET), Faculté des sciences et Techniques (FST), Université des Sciences, des Techniques
et des Technologies de Bamako (USTTB)

³IGBMC, CNRS UMR 7104 – INSERM U 1258 – Université de Strasbourg. France

Résumé

Lors des réponses immunitaires, les cellules inflammatoires produisent du monoxyde d'azote (NO), essentiel aux défenses de l'organisme. Cependant, une production accrue de NO, peut jouer un rôle dans les différentes étapes du processus de cancérogenèse en entraînant des altérations de l'ADN de tissus sains. Cette étude porte sur la capacité des extraits éthanoliques des feuilles de deux espèces de *Datura* récoltées au Mali (*D. innoxia* et *D. ferox*) à moduler la production de NO par les macrophages. Le screening a révélé la présence de nombreux métabolites secondaires notamment les alcaloïdes et les composés phénoliques au niveau des feuilles des deux espèces. Le dosage des nitrites par colorimétrie et le test de viabilité cellulaire ont montré que les extraits de *D. innoxia* présente la meilleure activité biologique. 10 µg/mL, les extraits de *D. innoxia* ont donné une viabilité de macrophages murins de 100%, une inhibition de 30% de NO et une IC₅₀ = 23,57±0,94 µg/mL. Par contre c'est à une concentration de 50 µg/mL que les extraits de *D. ferox* ont présenté les meilleurs résultats, une inhibition de 35% avec une IC₅₀ = 72,9 ±5,05 µg/mL. Ces résultats pourraient expliquer l'utilisation de *Datura* dans le traitement des inflammations.

Mots clés : *Datura*, Nitrite, inflammation, macrophages.

Introduction

L'oxygène et l'azote se trouvent en abondance dans tout système aérobie. Ces molécules sont impliquées dans de nombreux processus physiologiques et métaboliques, et subissent des modifications chimiques au sein du système (Di Meo *et al* 2016). Ces molécules passent à un état facilement réactif lorsqu'elles sont transformées en fragments non appariés dans l'organisme. Quelques exemples de telles espèces réactives sont l'oxygène singulet, l'anion superoxyde, l'oxyde nitrique, le radical nitrique, le radical hydroxyle, etc (Dey *et al.*, 2016).

Les termes "espèces réactives de l'oxygène" (ROS) et "espèces réactives de l'azote" (RNS) ont été utilisés pour décrire ces entités, car de nombreux radicaux et non-radicaux libres de l'oxygène et de l'azote sont impliqués dans le processus global. Ces molécules se forment au sein du système vivant sous l'effet de divers facteurs exogènes et endogènes (Barzegarand *et al.*, 2011). Ces molécules, de par leur nature chimique, sont impliquées dans les lésions de l'ADN, la peroxydation des lipides et l'oxydation de nombreuses molécules cellulaires, y compris les membranes cellulaires, la conséquence inévitable étant une lésion cellulaire (De Iulii *et al.*, 2009). Les états pathologiques résultant de ces agressions oxydatives comprennent la cirrhose du foie, le cancer, la maladie d'Alzheimer, le diabète sucré, la polyarthrite rhumatoïde et la sclérose en plaques (Kasprzak *et al.*, 2002 ; Jacob et Sotoudeh, 2002).

Le monoxyde d'azote (NO), une RNS, est une molécule de signalisation intercellulaire qui joue un rôle clé dans divers processus biologiques en modifiant certaines protéines, les membranes lipidiques et l'ADN (Oates *et al.*, 2013). Les niveaux de NO (élevés ou faibles) dans l'ensemble de l'organisme indiquent un état de trouble, comme les affections cardiovasculaires et neurodégénératives, les maladies inflammatoires auto-immunes et le cancer (Na *et al.*, 2018). Les cytokines pro-inflammatoires, telles que l'interleukine-1β (IL-1β), l'interleukine-6 (IL-6) et le facteur de nécrose tumorale (TNF-α), agissent rapidement pour activer les leucocytes et sont impliquées dans les réponses biologiques aux endotoxines. Ces cytokines servent de médiateurs dans la réaction de phase aiguë et sont principalement impliquées dans les réponses inflammatoires et les douleurs neuropathiques (Özaktay *et al.*, 2006).

L'inflammation est une réponse immunitaire protectrice contre les agents pathogènes ou les blessures subies par l'organisme hôte. L'objectif principal de la réponse inflammatoire est de détecter et d'éliminer

les éléments qui interfèrent avec l'homéostasie de l'organisme. Les réponses inflammatoires chroniques entraînent diverses affections, telles que des lésions tissulaires inflammatoires, des septicémies et des troubles auto-immuns. Il est largement admis qu'une inflammation prolongée conduit à un large spectre de maladies humaines (Laveti et al., 2013).

De nombreux troubles humains sont traités par les plantes médicinales dans le monde entier. Les pays développés et en développement utilisent leurs riches réservoirs de plantes médicinales et se concentrent également sur la reconnaissance de produits naturels inconnus. Actuellement, les médicaments à base de plantes ont joué un rôle clé dans les systèmes de médecine traditionnels et contemporains (Benítez *et al.*, 2018).

Le genre *Datura*, appartenant à la famille des Solanaceae, possède des espèces connues pour leurs diverses propriétés médicinales. Entre autres vertus, nous pouvons citer leur utilisation pour traiter de nombreux troubles inflammatoires, tels que les plaies, les ulcères, les gonflements, l'asthme et la polyarthrite rhumatoïde (Kirtikar et Basu, 1999 ; Togola *et al.*, 2019).

Compte tenu des utilisations ethnomédicales de *Datura spp.* en tant qu'agent thérapeutique, en particulier pour le traitement de diverses affections chroniques liées à l'inflammation, comme le cancer, le présent travail a été planifié pour examiner la capacité de deux (2) espèces de *Datura* (*D. innoxia* et *D. ferox*) à moduler la sécrétion de la production de NO par les macrophages murins.

Matériel et méthodes

Matériel végétal

Le matériel végétal constitué de feuilles de *Datura innoxia* Mill. et *Datura ferox* L. a été récolté à Kolondièba, dans le sud du Mali en octobre 2012. La plante a été identifiée au laboratoire d'écologie tropicale de l'Université des sciences, des techniques et de technologie de Bamako. Les feuilles et les graines ont été soigneusement lavées, séchées à la température ambiante avant d'être réduites en poudre puis conservées à l'abri de la lumière et de l'humidité.

Méthodes

Préparation des extraits éthanoliques :

Les extraits ont été obtenus par macération de 50 g de poudre dans 500 mL d'éthanol. Le mélange est resté sous agitation pendant 48 h puis filtré sous vide. Les filtrats obtenus ont été évaporés à sec sous pression réduite à l'aide d'évaporateur rotatif.

Screening phytochimique :

La mise en évidence des principaux groupes chimiques des différents extraits de *Datura* a été réalisée grâce aux méthodes classiques basées sur des réactions de coloration et de précipitation par des réactifs chimiques spécifiques selon les protocoles décrits par Harborne, (1998) et Bruneton (2009). Ainsi, les alcaloïdes ont été mis en évidence par le réactif de Dragendorff. La caractérisation des tanins s'est effectuée le chlorure ferrique. Pour la détermination des triterpènes, nous avons utilisé l'anhydride acétique et l'acide sulfurique concentré. L'alcool chlorhydrique dilué, les copeaux de magnésium et l'alcool iso amylique ont été utilisés pour rechercher les flavonoïdes. Pour la recherche des coumarines, nous avons utilisé la méthode de fluorescences à l'UV à 365 nm. Le test de mousse a permis de mettre en évidence les saponosides.

Test de production d'oxyde nitrique (NO)

Les macrophages RAW264.7 ont été ensemencés dans des plaques à 96 puits à une densité de 2×10^5 cellules/puits CORTAR 3596 et ont été laissés se fixer et croître pendant la nuit, puis les cellules ont été prétraitées avec 20 μ L de diverses concentrations de composés testés (DMSO+DMEM sans sérum comme solvant) pendant 4 heures. Après la période de pré-incubation, les cellules ont été stimulées pour générer du NO par l'addition de 20 μ L de LPS à 1 μ g/mL Puis incubées pendant 24h à 37°C sous 5% CO₂. Après incubation pendant 24h, la production de NO dans chaque puits a été évaluée en ajoutant 100 μ L de réactif de Griess (Yang *et al.*, 2014). L'absorbance a été mesurée à 540 nm à l'aide d'un lecteur ELISA, et la concentration de nitrite a été déterminée à l'aide d'une courbe standard de nitrite de sodium. La valeur IC₅₀, c'est-à-dire la concentration de l'échantillon entraînant une inhibition de 50 % de la production de NO, a été déterminée par une analyse de régression non linéaire (% d'inhibition en fonction de la concentration) Lin *et al.*, 2013. La N-monométhyl-L-arginine (L-NMMA) a été utilisée comme contrôle positif. Le taux d'inhibition a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Taux d'inhibition (\%)} = 100 \times \frac{[\text{NO}_2^-]_{\text{LPS}} - [\text{NO}_2^-]_{\text{LPS+échantillon}}}{[\text{NO}_2^-]_{\text{LPS}} - [\text{NO}_2^-]_{\text{non traité}}}$$

Viabilité cellulaire : test au WST-1

La viabilité des cellules a été évaluée à l'aide du kit de test (WST-1 OZYME 630118). Le réactif de prolifération cellulaire WST-1 a été ajouté dans un volume de 10 µL/puits à la 24e et 48e heure. Les cellules ont été incubées pendant 4 h dans une atmosphère humidifiée (37°C, 5% CO₂). Les absorbances des échantillons ont été mesurées à 450 nm avec un lecteur ELISA (Akal *et al.*, 2014)

Résultats et discussion

Screening phytochimique

Les résultats du criblage phytochimique des extraits éthanoliques de feuilles de *D. innoxia* Mill. et *D. ferox* L. sont résumés dans le Tableau 1.

Tableau 1 : Composition phytochimique des deux parties de la plante.

Groupes chimiques	<i>D. innoxia</i>	<i>D. ferox</i>
Alcaloïdes	+	+
Coumarines	+	+
Saponosides	+	+
Tanins	+	+
Triterpènes	+	+
Flavonoïdes	+	+

(+) * = Présents

Le tableau 1 met en évidence la présence des nombreux métabolites secondaires qui pourraient justifier l'activité anti-inflammatoire du genre *Datura*. D'autres travaux ont montré l'implication de ces métabolites dans diverses applications biologiques (Guo *et al.*, 2019 ; Togola *et al.*, 2019). En effet, beaucoup de withanolides isolés des feuilles du genre *Datura* ont présenté un potentiel anti-inflammatoire *in vitro* (Bing-YouYang *et al.*, 2014, Zhang *et al.*, 2013 ; Yang *et al.*, 2014).

Dans la présente étude, les espèces de *Datura* (*D. innoxia* et *D. ferox*) ont montré leur capacité à moduler la sécrétion de nitrites (Tableau 2). Toutefois, cette activité est plus accentuée chez *D. innoxia* par rapport au *D. ferox*. En effet, à concentrations égales, les extraits de *D. innoxia* ont montré les meilleurs taux d'inhibition et de viabilité cellulaire. A la concentration de 10 µg/mL d'extraits, les feuilles de *D. innoxia* ont modulé la sécrétion de nitrites mais sans aucune toxicité cellulaire. Tandis que *D. ferox* a présenté une toxicité cellulaire de 23,51±1,89 avec seulement 11,23±2,55 % d'inhibition du taux de nitrites.

Cette étude confirme les résultats d'autres travaux qui avaient signalé la capacité des espèces du genre *Datura* à inhiber la sécrétion de nitrites produit par les macrophages murins (Chao *et al.*, 2011 ; Maldonado *et al.*, 2010). Il est aussi à retenir que l'huile essentielle de *D. stramonium* (provenant des graines et des feuilles) présentait une activité anti-inflammatoire chez les rats induits par l'albumine (Aboluwodi *et al.* 2017).

Les IC₅₀ des différents extraits (tableau 2), ont montré que les feuilles de *Datura* présentent une bonne activité anti-inflammatoire avec 23,57±0,94µg/mL et 72,90±5,05µg/mL respectivement pour *D. innoxia* et *D. ferox*. Yang *et al.*, (2014), ont évalué le potentiel anti-inflammatoire *in vitro* de différents isolats issus de *D. metel* à l'aide de macrophages murins RAW 264.7 stimulés par le LPS. Ainsi, parmi ceux-ci, 4 composés ont montré une inhibition significative de la production de nitrites avec des valeurs IC₅₀ variant de 17,7 à 20,9µM.

Tableau 2 : Effet des extraits de *Datura* sur la sécrétion de nitrite et toxicité des extraits sur les macrophages murins.

Concentrations (µg/ml)	<i>Datura innoxia</i>		<i>Datura ferox</i>	
	% Inhibition NO	Toxicité sur macrophages murins	% Inhibition NO	Toxicité sur macrophages murins
10	30,05 ±3,11	0,00	11,23±2,55	23,51±1,89
30	59,13 ±2,33	15,25 ±5,03	24,61±3,58	56,35±7,23
50	81,86 ±6,72	59,13 ±2,33	35,12±3,11	64,59±9,08
100	92,35 ±3,01	63,59 ±4,07	66,35±7,23	76,95±2,74

Tableau 3 : Variation des IC₅₀ des extraits de *D. innoxia* et *D. ferox*

	<i>Datura innoxia</i>	<i>Datura ferox</i>
IC ₅₀ (µg/mL)	23,57±0,94	72,90±5,05

Tableau 2 : Effet des extraits de *Datura* sur la sécrétion de nitrites et sur les macrophages murins.

Concentrations (µg/ml)	<i>Datura innoxia</i>		<i>Datura ferox</i>	
	% Inhibition NO	Toxicité sur macrophages murins	% Inhibition NO	Toxicité sur macrophages murins
10	30,05 ±3,11	0,00	11,23±2,55	23,51±1,89
30	59,13 ±2,33	15,25 ±5,03	24,61±3,58	56,35±7,23
50	81,86 ±6,72	59,13 ±2,33	35,12±3,11	64,59±9,08
100	92,35 ±3,01	63,59 ±4,07	66,35±7,23	76,95±2,74
IC ₅₀ (µg/mL)	23,57±0,94		72,90±5,05	

Conclusion

Au terme de cette étude, il est à noter que les extraits de feuilles du genre *Datura* exercent une activité modulatrice sur la production de monoxyde d'azote sécrété par les macrophages murins au cours d'une inflammation. Toutefois cette activité anti-inflammatoire *in vitro* est plus prononcée avec les feuilles de *D. innoxia* par rapport à celles de *D. ferox*. Cette activité anti-inflammatoire présentée par les deux espèces de *Datura* pourrait justifier leur utilisation dans la médecine traditionnelle malienne.

Références

- Aboluwodi AS, Avoseh NO, Lawal AO, Ogunwande IA, Giwa AA (2017) Chemical constituents and anti-inflammatory activity of essential oils of *Datura stramonium* L. *J Med Plant Stud* 5 : 21–25.
- Akal ZÜ, Gürkan S, Alpsoy L, Yıldız A (2014) Evaluation of Cytotoxic and Genotoxic Effects of *Datura stramonium* Extracts on Cultured Human Lymphocytes. *Med Aromat Plants* 3 : 170. doi: 10.4172/2167-0412.1000170.
- Barzegarand A. and Moosavi-Movahedi A.A., "Intracellular ROS Protection efficiency and free radical-scavenging activity of curcumin," *PLoS One*, vol. 6, no.10, 2011.
- Bing-You Y, Rui G, Ting L, Jing-Jing W, Jing Z, Yan L, Qiu-Hong W, Hai-Xue K. (2014). New anti-inflammatory withanolides from the leaves of *Datura metel* L. *Steroids* ; 87 : 26-34. doi: 10.1016/j.steroids.2014.05.003.
- Bruneton J. 2009. Pharmacognosie, Phytochimie et plantes médicinales. 4^{ème} Edition. Technique et Documentation, 1268p.
- Chao, C. H. Chou, K.J. Wen, Z.H. Wang, G.H.; Wu, Y.C.; Dai, C.F.; Sheu, J.H. (2011) Paraminabeolides A–F, cytotoxic and anti-inflammatory marine withanolides from the Soft Coral *Paraminabea acronocephala*. *J. Nat. Prod.*, 74, 1132–1141.
- De Iuliis G. N., R. J. Newey, B.V. King, and R. J. Aitken, Mobile phone radiation induces reactive oxygen species production and DNA damage in human spermatozoa *in vitro*, *PLoS One*, vol.4, no.7, 2009.
- Dey P., S. Dutta, A. Biswas-Raha, M. P. Sarkar, and T. K. Chaudhuri. Haloalkane induced hepatic insult in murine model: amelioration by Oleander through antioxidant and anti-inflammatory activities, an *in vitro* and *in vivo* study. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, vol.16, no.1, p.280, 2016.
- Di Meo S., T. T. Reed, P. Venditti, and V. M. Victor. Role of ROS and RNS sources in physiological and pathological conditions. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, vol.2016, 44pages, 2016.
- Guo R, Liu Y, Pan J, Guan W, Yang BY, Kuang HX (2019) A new ses-quitertpenoid with cytotoxic and anti-inflammatory activity from the leaves of *Datura metel* L. *Nat Prod Res* 28:1–7
- Harborne J. B, 1998. *Phytochemical Methods: A guide to moderne techniques of plant analysis* 3e ed.: chapman and hill.1998. 303p.
- Jacob R. A. and G. Sotoudeh, "Vitamin C function and status in chronic disease," *Nutrition in Clinical Care*, vol.5, no.2, pp.66–74, 2002.
- Kasprzak K. S., "Oxidative DNA and protein damage in metal-induced toxicity and carcinogenesis," *Free Radical Biology and Medicine*, vol.32, no.10, pp.958–967, 2002.
- Laveti, D., Kumar, M., Hemalatha, R., Sistla, R., Gm Naidu, V., Talla, V., Verma, V., Kaur, N and Nagpal, R., 2013. Anti-inflammatory treatments for chronic diseases: a review. *Inflammation & Allergy-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Inflammation & Allergy)*, 12, 349-361.

15. Lin, Y., Wang, F., Yang, L.J., Chun, Z., Bao, J. K., Zhang, G. L., 2013. Anti-inflammatory phenanthrene derivatives from stems of *Dendrobium denneanum*. *Phytochemistry* 95, 242–251.
16. Maldonado, E. Amador, S. Martínez, M., Pérez-Castorena, A.L. (2010) Virginols A-C, three new withanolides from *Physalis virginiana*. *Steroids*, 75, 346–349.
17. Na, Y.R., Je, S., Seok, S.H., 2017. Metabolic features of macrophages in inflammatory diseases and cancer. *Cancer Lett.* 413, 46-58.
18. Oates, J.C., 2010. The biology of reactive intermediates in systemic *lupus erythematosus*. *Autoimmunity*. 43, 56-63.
19. Özaktay, A.C., Kallakuri, S., Takebayashi, T., Cavanaugh, J.M., Asik, I., DeLeo, J.A. and Weinstein, J.N., 2006. Effects of interleukin-1 beta, interleukin-6, and tumor necrosis factor on sensitivity of dorsal root ganglion and peripheral receptive fields in rats. *Eur Spine J.* 15, 1529-1537.
20. Togola I, Dembélé AA, Tounkara F, Diarra N, Konaré MA, Karembe M, Maiga SZ, Dembélé D. 2019. Evaluation of in vitro Antioxidant Activities of Ethanol Extracts of *Datura innoxia* Mill. Leaves and Seeds Harvested in Mali. *Annual Research and Review in Biology* 33, 1–8. <https://doi.org/10.9734/ARRB/2019/v33i230115>.
21. Yang BY, Guo R, Li T1, Wu JJ, Zhang J, Liu Y, Wang QH, Kuang HX. (2014). New anti-inflammatory withanolides from the leaves of *Datura metel* L. *Steroids*. 87: 26-34. doi: 10.1016/j.steroids.2014.05.003.
22. Zhang Huaping, Bazzill Joseph, Gallagher Robert J., Subramanian Chitra, Patrick T. Grogan, Victor W. Day, Kelly Kindscher, Mark S. Cohen, Barbara N. Timmermann. (2013). Antiproliferative Withanolides from *Datura wrightii*. *J. Nat. Prod.*, 76, 3, 445-449.

Synthèse et évaluation de l'activité anti-Dengue et de la cytotoxicité des 1,2,3-triazènes

Seynabou Sokhna^{1,2,3}, Insa Seck¹, Samba Fama Ndoye¹, Issa Samb², Marc Presset³, Erwan Legall³, Lionel Berthoux⁴, Isabel Desgagné-Penix⁵, Matar Seck¹

¹Laboratoire de Chimie Organique et Thérapeutique, Faculté de Médecine, Pharmacie and Odontologie de Dakar, Dakar, Sénégal

²Equipe de Recherche Chimie Organique et Thérapeutique (ECOT), Université Alioune Diop de Bambey, Sénégal

³UMR 7182 - ICMPE - Institut de Chimie et des Matériaux Paris Est, Thiais-France

⁵Dépt. de Chimie, Biochimie et Physique, UQTR, Trois-Rivières, QC, Canada

⁴Dépt. de Sciences Biomédicales, UQTR, Trois-Rivières, QC, Canada

nasokhna@gmail.com

Résumé :

Contexte : La dengue est une maladie infectieuse causée par les DENV, virus à ARN appartenant à la famille des Flavivirus, dont le moustique *Aedes aegypti* est le vecteur. L'incidence mondiale de la dengue a augmenté de façon spectaculaire au cours des dernières décennies selon l'OMS. Aucun traitement pour l'infection par le DENV n'est actuellement disponible. De plus, le vaccin Dengvaxia ne confère pas l'immunité pour toutes les quatre souches virales. Il reste donc essentiel de découvrir de nouvelles molécules antivirales contre le DENV.

Objectifs : L'objectif de notre étude est de synthétiser des 1,2,3-triazènes et d'évaluer leur propriétés anti-dengue ainsi que leur cytotoxicité.

Méthodologie : Une librairie de 1,2,3-triazènes a été obtenue par diazocopulation. Un criblage est réalisé pour mesurer l'activité anti-DENV des composés à des concentrations de 12,5-100 µM et les cytotoxicités ont été mesurées.

Résultats : Plusieurs composés présentent une activité intéressante contre le virus de la dengue, particulièrement le composé **SS034** qui inhibe complètement l'ineffectivité du DENV à des concentrations non cytotoxiques, avec une **CE₅₀** de **8,1 µM** proche à celle de la chérylline (8, µM). Certains sont, cependant, très cytotoxiques **SS026** et **SS050**.

Conclusion : Ainsi, nous avons identifié des molécules antivirales principales qui pourraient guider le développement de nouveaux médicaments pour le traitement des Flavivirus. La forte cytotoxicité observée sur certaines molécules laisse présager d'un éventuel effet anticancéreux. Les 1,2,3-triazènes pourraient donc être évalués pour leurs effets sur d'autres virus tels que le SARS-Cov 2.

Mots clés : DENV; 1,2,3-triazènes; anti-dengue; cytotoxicité.

Synthesis and evaluation of the anti-Dengue activity and cytotoxicity of 1,2,3-triazenes

Abstract

Background: Dengue is an infectious disease caused by DENV, an RNA virus belonging to the Flavivirus family, which is carried by the *Aedes aegypti* mosquito. The global incidence of dengue has increased dramatically in recent decades according to the WHO. No treatment for DENV infection is currently available. In addition, the Dengvaxia vaccine does not confer immunity to all four viral strains. Therefore, it remains essential to discover new antiviral molecules targeting DENV.

Objectives: The objective of our study is to synthesize 1,2,3-triazenes and evaluate their anti-dengue properties as well as their cytotoxicity.

Methodology: A library of 1,2,3-triazenes was obtained by diazocopulation. Screening is performed to measure the anti-DENV activity of the compounds at concentrations of 12.5-100 µM and the cytotoxicities were measured.

Results: Several compounds showed activity against dengue virus of interest particularly the compound [**SS034**] which completely inhibits DENV infectivity at non-cytotoxic concentrations, with an **EC₅₀** of **8.1 µM** close to that of cherylline (8 µM). Some are, however, highly cytotoxic (**SS026** and **SS050**).

Conclusion: Thus, we have identified key antiviral molecules that could guide the development of new drugs for the treatment of Flaviviruses. The strong cytotoxicity observed on some molecules suggests a possible anticancer effect. The 1,2,3-triazenes could therefore be evaluated for their effects on other viruses such as SARS-Cov 2.

Key words: DENV; 1,2,3-triazenes; anti-dengue; cytotoxicity.

1. Introduction

La Dengue est une maladie infectieuse causée par le virus de la Dengue (DENV), transmise par les moustiques femelles de type *Aedes aegypti* et *Aedes albopictus*, dans les régions tropicales, subtropicales et aussi tempérées [1,2]. A ce jour, quatre (4) sérotypes de la Dengue identifiés, peuvent causer des symptômes allant du simple rhume à une fièvre hémorragique grave, appelée la Dengue sévère [1,2]. Le nombre de cas et de régions touchées ne cessent d'augmenter [1,2]. Selon l'OMS, 3,9 milliards de personnes dans 129 pays différents seraient à risque de contracter la Dengue. L'infection par l'un des sérotypes confère une immunité à vie contre celui-ci, mais il n'y a pas d'immunité protectrice croisée contre les autres sérotypes [3]. A ce jour, il n'existe aucun traitement antiviral contre la dengue [1]. En ce qui concerne le vaccin Dengvaxia, il ne confère pas l'immunité pour tous les sérotypes, et seules les personnes de plus de 12 ans ayant déjà contracté la dengue une fois peuvent le recevoir [4]. Par conséquent, il est primordial de découvrir et caractériser de nouvelles molécules antivirales présentant un potentiel inhibiteur de la dengue.

En chimie médicinale, la découverte d'inhibiteurs spécifiques, présentant des structures hétérocycliques comme les composés contenant le motif 1,2,3-triazènes, a conduit au développement d'antibiotiques innovants contre certaines classes de bactéries pathogènes [5]. Les motifs 1,2,3-triazènes sont incorporées à des molécules plus complexes présentant d'importantes activités antibactériennes, antifongiques, anti-inflammatoire et anti-VIH [5]. Les 1,2,3-triazènes peuvent être obtenus par la méthode de diazocopulation à froid. Puisque les dérivés de 1,2,3-triazène présentent une structure azotée semblable à celles d'alcaloïdes, dont la lycorine et la cherylline, ayant déjà montré un effet inhibiteur sur la dengue, ceux-ci pourraient aussi avoir une activité anti-dengue intéressante [5,6].

Dans cette étude, l'activité antivirale anti-dengue ainsi que la cytotoxicité des dérivés de triazène ont été testées *in cellulo*, l'objectif étant d'identifier les composés présentant une activité antivirale et cytotoxique, antivirale et non-cytotoxique ainsi que seulement cytotoxique. Il s'est avéré que certains composés pourraient effectivement être intéressants pour le traitement de la Dengue, et que d'autres pourraient être davantage intéressants en tant qu'agents dans le traitement du cancer.

2. Matériel et méthodes.

Il existe plusieurs méthodes accéder aux 1,2,3-triazènes, la plus utilisée est la méthode de diazocopulation. Cette méthode passe par la formation d'un sel de diazonium qui à son tour réagit avec une amine primaire ou secondaire (copulation) pour former le triazène désiré (schéma 1).

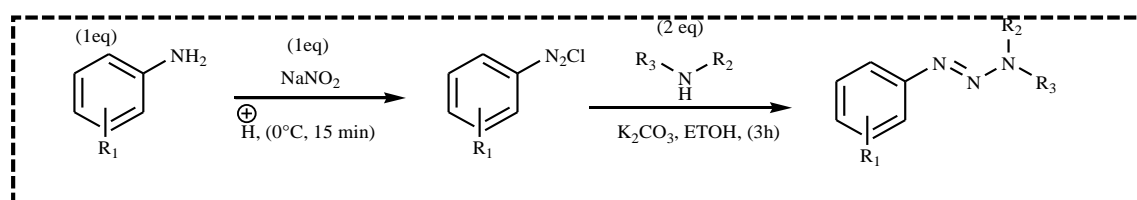


Schéma 1: Procédé général de synthèse des triazènes

Pour les tests antiviraux, des solutions de 10 mM de chaque composé ont été préparées dans du DMSO et conservées à -20°C. Un premier criblage a permis de mesurer l'activité anti-DENV des composés à des concentrations de 12,5, 25, 50 et 100 µM. Par la suite, les douze 1,2,3-triazène les plus actifs ont été évalués à nouveau à des concentrations plus faibles 1,56, 3,125, 6,25, 12,5, 25, 50 et 100 µM, en duplicate. Brièvement, les composés ont été ajoutés aux cellules d'hépatocarcinome Huh7 à 80-90% confluence, puis les cellules ont été infectées avec le virus. Le DMSO a été utilisé comme contrôle négatif et la lycorine comme contrôle positif. La plaque a ensuite été incubée à 37 °C à 5% CO₂, pendant 72 heures. L'infection a été mesurée par cytométrie en flux en mesurant le taux de cellules infectées (cellules GFP+) par rapport à la concentration de 1,2,3-triazènes. La cytotoxicité a été évaluée en marquant les cellules à l'iodure de propidium (PI) (cellules PI+), un composé qui permet de détecter les cellules en nécrose. Les valeurs d'EC₅₀ ont été obtenues avec le logiciel GraphPad Prism.

3. Résultats et discussion

3.1. Synthèse Organique

Plusieurs composés ont été synthétisés par la méthode de diazocopulation dont certains sont représentés avec des rendements allant de **35** à **73** % (figure 1). Les molécules obtenues ont été purifiées par chromatographie sur colonne, analysées par (RMN, HPLC et SM).

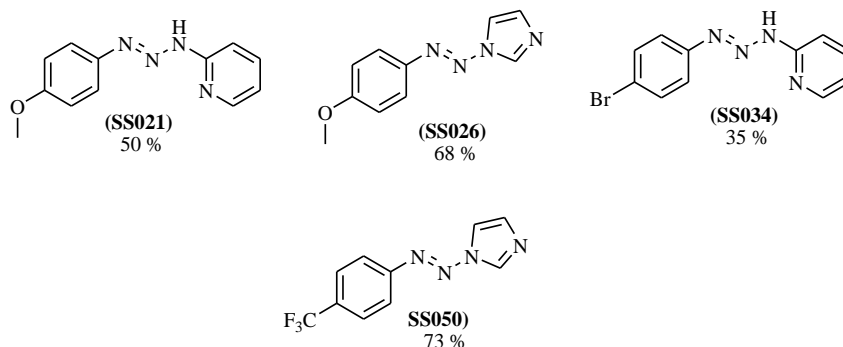


Figure 37: Quelques dérivés de triazènes obtenus

3.2. Effet antiviral et cytotoxicité des 1,2,3-triazènes

Les résultats d'activité antivirale ainsi que de la cytotoxicité des 1,2,3-triazènes synthétisés sont donnés dans les courbes de la figure 2 et représentent les pourcentages de cellules infectées et les pourcentages de cellules nécrosées en fonction de la concentration de chaque composé testé.

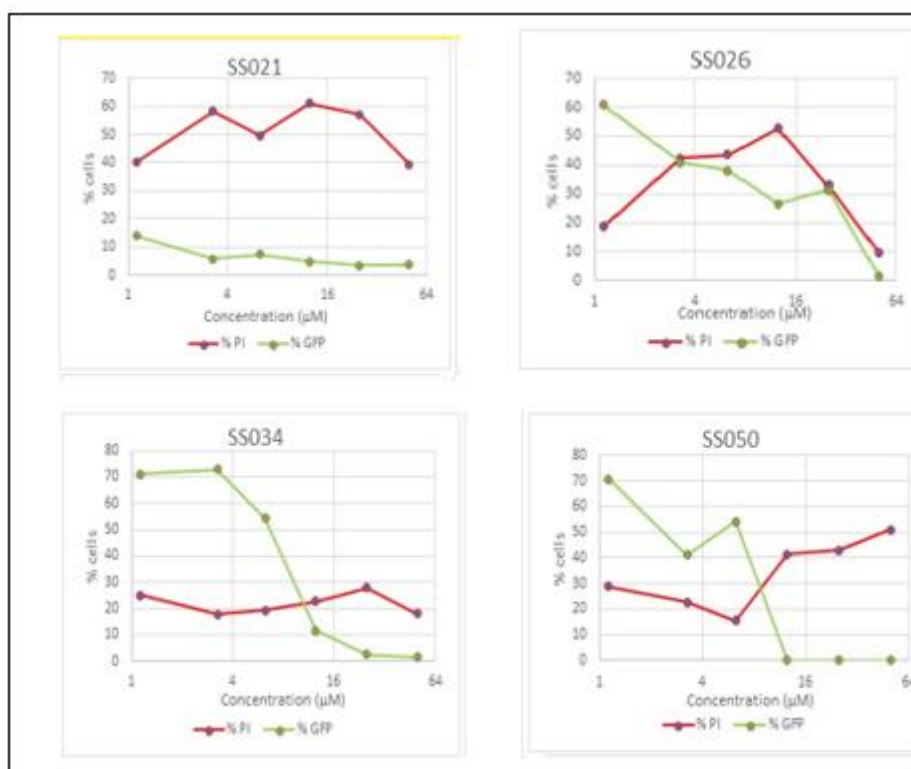


Figure 2: Pourcentage de cellules infectées par DENV (GFP) et pourcentage de cellules en nécrose (PI) en fonction de la concentration des composés SS021, SS026, SS034 et SS050

Le composé **SS026** est la molécule la plus active contre la dengue avec une CE_{50} de 3,25 μM (Tableau I). Cette activité est à relativiser car le PI de 42,5% permet de noter un pourcentage élevé de cellules nécrosées. Ce PI élevé montre une cytotoxicité importante sur des cellules tumorales. Les composés **SS034** et **SS050** enregistrent des CE_{50} très intéressantes de 8,075 μM et 7,815 μM respectivement comparables à celle de la chérylline (CE_{50} : 8 μM). Le composé **SS034** présente une activité antidengue très intéressante et peu cytotoxicité avec le plus bas taux de cellules nécrosées (PI de 22,8%).

Tableau I. CE₅₀ et cytotoxicité à la concentration la plus proche de l'EC₅₀ des 12 composés testés avec un potentiel antiviral.

	CE ₅₀ μM	% cellules PI+
SS021	nd	40,3% à 1 μM
SS026	3,25	42,5 % à 3,25 μM
SS034	8,078	22,8% à 12,5 μM
SS050	7,815	41,4% à 12,5 μM
Lycorine	1,7	18% à 3,25

Les composés **SS021**, **SS026**, et **SS050** sont ceux avec une cytotoxicité marquée mais sont les seuls composés qui parviennent à bloquer totalement l'infection à **50** et **100 μM**. Le composé **SS034** est le seul qui bloque complètement l'infection avec cytotoxicité relativement faible.

4. Conclusion

L'objectif de cette étude était de caractériser le pouvoir anti-DENV des dérivés de 1,2,3-triazènes. Plusieurs de ces composés montrent une activité antivirale comparable à celle de la cherylline (**8 μM**). Certains sont cependant très cytotoxiques comme les composés **SS021**, **SS026** et **SS050**. Le composé **SS034** présente un pouvoir anti-dengue intéressant avec une CE₅₀ de **8 μM** et une faible cytotoxicité (PI = **22,8 %**). Puisque les cellules utilisées sont des cellules cancéreuses, il est possible que ces composés puissent présenter un intérêt en tant qu'agents anticancéreux. Il serait intéressant de tester le pouvoir antiviral du composé **SS034** particulièrement sur d'autres Flavivirus, tels que le virus **Zika** et sur le **Coronavirus** et d'explorer davantage l'utilité de la cytotoxicité des composés **SS021**, **SS026** et **SS050** sur les cellules cancéreuses.

5. Bibliographie :

- [1]. Factsheets WHO-. 2017. Dengue and Severe Dengue.
- [2]. Dieng I, Cunha M, Diagne MM, Sembène PM, Zanotto PMdA, Faye O, Faye O. 715 2021. Origin and Spread of the Dengue Virus Type 1, Genotype V in Senegal, 716 2015–2019. *Viruses* 13:57.
- [3]. Gubler DJ. 1998. Dengue and dengue hemorrhagic fever. *Clinical microbiology reviews* 11:480-496.
- [4]. Khetarpal N, Khanna I. 2016. Dengue fever: causes, complications, and vaccine strategies. *Journal of immunology research* 2016.
- [5]. Insa S, Alioune F, Aicha BL, Fama NS, Seydou K, Abdoulaye D, Ismaïla C, Abda B, Amadou D, Sadibou BC, Generosa G, Yagamare F, Matar S. Synthesis, Characterization and Antimicrobial Activities of 1,4- Disubstituted 1,2,3-Triazole Compounds. *Curr Top Med Chem.* 2020;20(25):2289-2299. doi: 10.2174/1568026620666200819143029. PMID: 32814526.
- [6]. Ka S*, Mérindol N*, Sow AA*, Singh A, Landelouci K, B. Plourde M, Pépin G, Masi M, di Lecce R Evidente A, Seck M, Chatel-Chaix L, Berthoux L, Desgagné-Penix I. Amaryllidaceae alkaloid cherylline inhibits the replication of Dengue and Zika viruses. Accepted in *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2021.

Les endoperoxydes comme substituts de [¹⁸O]₂ pour la synthèse de molécules complexes marquées à l'oxygène par génération ex situ.

Marie-France Bakai¹, Philippe Hermange², Magali Szlosek², Patrick Toullec², Eric Fouquet²

¹Laboratoire de Chimie Organique et Sciences de l'Environnement (LaCOSE), Faculté des Sciences et Techniques, Université de Kara, BP 404, Togo

²Institut des Sciences Moléculaires, groupe CSH Université de Bordeaux, 351 cours de la Libération 33405 Talence, France

Le marquage radio-isotopique est une méthode de choix pour élucider les mécanismes moléculaires, notamment pour les recherches biologiques. L'oxygène joue un rôle clé dans plusieurs groupes fonctionnels, et son marquage isotopique s'avère souvent déterminant pour la compréhension des mécanismes. Parmi les différentes sources d'oxygène isotopique, le dioxygène a été utilisée avec succès pour la production d'une grande variété de produits naturels et de médicaments, et permettrait d'introduire avantageusement deux atomes d'oxygène marqués en même temps. L'objectif de notre étude est de mettre en oeuvre une nouvelle méthode de génération d'O₂ marqué et d'en utiliser des quantités stoechiométriques pour synthétiser des molécules radiomarquées.

Ainsi, le 9,10-diphénylanthracène endoperoxide, marqué à l'¹⁸O et à l'¹⁷O, a été synthétisé avec un rendement de 98 %. L'analyse par spectrométrie de masse a permis de déterminer le taux d'enrichissement isotopique des endoperoxydes synthétisés. Ces endoperoxydes ont été utilisés comme source d'O₂ marqué afin de synthétiser différentes molécules telles que l'ascaridole, la 5-hydroxy-2(5H)-furanone et la 1,4-naphtoquinone avec de très bon rendements. Les analyses RMN et spectrométrie de masse ont prouvé l'enrichissement isotopique et ont permis d'élucider certains mécanismes. Ces résultats sont encourageants pour la synthèse radiomarquée de molécules complexes.

Mots clés : oxygène singulet, photosensibilisateur, RMN, spectrométrie de masse

Abstract :

Radioisotope labeling is a method of choice for elucidating molecular mechanisms, especially in biological research. Oxygen plays a key role in several functional groups, and its isotopic labeling is often decisive for the understanding of the mechanisms. Among the different sources of isotopic oxygen, oxygen has been successfully used for the production of a wide variety of natural products and drugs, and would allow the advantageous introduction of two labeled oxygen atoms at the same time. The objective of our study is to implement a new method for generating labeled O₂ and to use stoichiometric amounts of it to synthesize radiolabeled molecules.

Thus, 9,10-diphenylanthracene endoperoxide, labeled with ¹⁸O and ¹⁷O, was synthesized in 98 % yield. Mass spectrometry analysis was used to determine the isotopic enrichment of the synthesized endoperoxides. These endoperoxides were used as a source of labelled O₂ to synthesize different molecules such as ascaridole, 5-hydroxy-2(5H)-furanone and 1,4-naphthoquinone in very good yields. NMR and mass spectrometry analyses proved the isotopic enrichment and allowed to elucidate some mechanisms. These results are encouraging for the radiolabelled synthesis of complex molecules.

Key words : singlet oxygen, photosensitizer, NMR, mass spectrometry

1- Introduction

Malgré les problèmes pratiques et de sécurité associés, le marquage radio-isotopique est resté pendant des décennies la méthode de choix pour élucider les mécanismes moléculaires, en particulier pour les recherches biologiques [1]. Cependant, les récents développements techniques de la spectroscopie RMN et de la spectrométrie de masse [2] ont permis l'utilisation d'isotopes stables pratiques pour de nombreuses applications, notamment la détermination du métabolisme des plantes [3], les essais de pharmacologie clinique [4], ou les études mécanistiques en chimie organique/organométallique [5]. Parmi les différents éléments présents dans les molécules organiques et biologiques, l'oxygène joue un rôle clé dans de nombreux groupes fonctionnels, et son marquage isotopique s'avère souvent déterminant pour la compréhension des mécanismes. En effet, [¹⁸O] peut être facilement différencié par analyse de masse du prédominant [¹⁶O] (99,759%), et les récents progrès en instrumentation RMN permettent une détection efficace des déplacements chimiques de [¹⁷O] (-30 à +1000 ppm) [6]. Cependant, en raison de l'abondance naturelle extrêmement faible de [¹⁸O] et [¹⁷O] (0,204% et 0,037%, respectivement), l'utilisation de composés isotopiquement enrichis est essentielle. Dans ce contexte, les méthodologies de synthèse pour l'incorporation d'oxygène marqué (¹⁸O) ont été largement étudiées, mais la plupart s'appuient sur des sources d'oxygène coûteuses, requièrent la manipulation de gaz qui est assez

compliqué et les manipulations doivent se faire dans des conditions réactionnelles difficiles. C'est pour palier à ces contraintes que nous nous sommes intéressés à l'oxygène dans son état singulet pour permettre l'incorporation d'oxygène marqué lors de la synthèse de produits naturels ou de potentiels médicaments.

L'objectif général de notre étude était de mettre en place une nouvelle méthode permettant de générer de l'oxygène et de l'utiliser en quantité stoechiométrique et d'appliquer cette nouvelle méthode pour synthétiser des molécules d'intérêt isotopiquement marquée.

2- Matériel et méthodes

❖ Synthèse du précurseur à oxygène

L'endopéroxyde de 9,10-diphénylanthracène, a été choisi comme source d'oxygène car il est simple à synthétiser avec l'obtention de très bon rendements, stable à température ambiante et il permet de libérer de l'oxygène à son état singulet lorsqu'on le chauffe. C'est un solide qui est facile à manipuler contrairement au gaz et permet de contrôler la quantité d'oxygène que l'on voudra libérer. Il a été synthétisé par photochimie en utilisant le bleu de méthylène comme photosensibilisateur et une lampe LED de 150W de puissance et émettant à 660 nm de lumière rouge. Le solvant utilisé était le dichlorométhane et, pour obtenir ce précurseur radiomarké, le milieu réactionnel était mis en contact du gaz commercial [¹⁸O] et [¹⁷O]. Ainsi, deux précurseurs ont été préparés : un marqué à l'oxygène 18 et l'autre marqué à l'oxygène 17 selon le schéma réactionnel suivant :

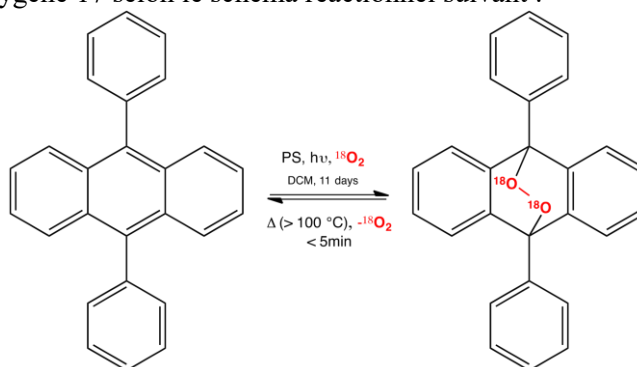


Figure 1 : Synthèse de l'endopéroxyde de 9,10-diphénylanthracène radiomarké

❖ Utilisation d'un système double chambre pour la synthèse de molécules radiomarkées

Afin d'utiliser des quantités stoechiométriques de notre oxygène marqué, un système innovant a été mis en place pour réaliser nos synthèses organiques. Une verrerie spécifique que nous avons appelé système double chambre a été produit par un verrier. C'est un milieu que l'on peut hermétiquement fermer pour éviter les fuites de gaz, étant donné que l'oxygène est notre principal réactif. Dans la chambre 1 du système est installé la masse souhaité de notre précurseur solide d'endopéroxyde de 9,10-diphénylanthracène. Dans la chambre 2, on installe le réactif que l'on veut faire réagir avec l'oxygène et un photosensibilisateur, puisque nos réactions se font toutes par photochimie, sous action de la lumière. Pour initier la réaction, on chauffe la chambre 1 à une température supérieure à 100°C : l'endopéroxyde de 9,10-diphénylanthracène fond et on observe un dégagement gazeux d'oxygène qui est à son état singulet. L'oxygène ainsi libéré circule dans le système, en se désexcitant retrouvant son état naturel triplet, et arrive dans la chambre 2 où se situe le réactif et le photosensibilisateur. Cette chambre 2 est positionné en face d'une lampe LED de longueur d'onde adaptée pour que la réaction par photochimie puisse se faire.

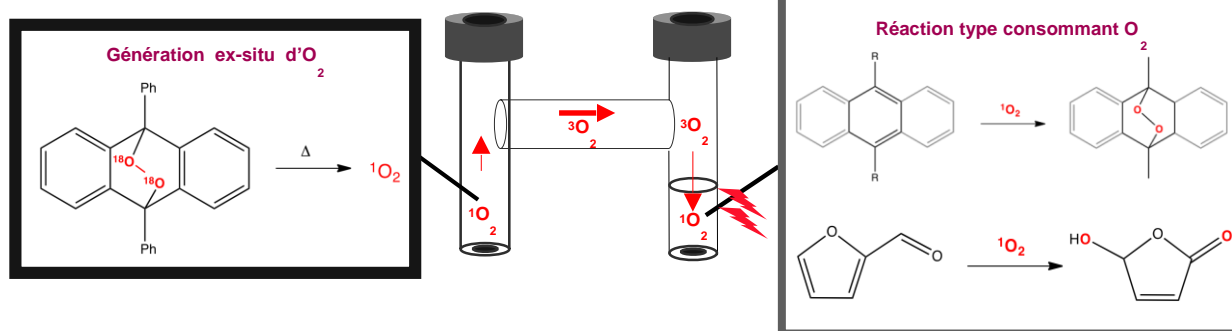


Figure 2 : Système double chambre pour la synthèse de molécules radiomarquées

❖ Purification des molécules synthétisées

Les molécules synthétisées ont été purifiées en réalisant une chromatographie sur colonne soit sur gel d'alumine ou sur gel de silice. Les principaux éluants utilisés ont été le dichlorométhane, le cyclohexane, le méthanol et l'acétate d'éthyle. Ces solvants ont pu être employés seuls ou en mélange afin de réaliser un gradient de polarité et permettre la séparation et l'isolement de la molécule souhaitée qui a ensuite été analysée.

❖ Analyse des molécules obtenues

✎ RMN

L'analyse par RMN du proton ^1H et du carbone ^{13}C des molécules a été réalisée sur un spectroscope RMN Bruker Avance III 300 MHz avec sonde directe 5mm BBFO.

Pour l'analyse des molécules marquées à $[17\text{O}]$, en plus de la RMN du proton et du carbone, la RMN de $[17\text{O}]$ a été réalisée sur un spectroscope RMN Bruker Avance III 600 MHz avec sonde Inverse 5 mm type BBI ($^1\text{H}/^{15}\text{N}-31\text{P}/2\text{H}$) avec gradients Z et ATM destinée à la RMN liquide.

L'interprétation des spectres RMN a été réalisée avec le logiciel MestRenova.

✎ Spectrométrie de masse

Pour vérifier que les molécules synthétisées sont bel et bien radiomarquées et pour déterminer le pourcentage d'enrichissement isotopique, une analyse par spectrométrie de masse a été réalisée. L'analyse spectroscopique des produits obtenus a été effectuée au sein de la plateforme analytique CESAMO de l'Institut des Sciences Moléculaires de l'Université de Bordeaux. Le chromatographe est un GC/MS ISQ (ThermoFisher), spectromètre de masse couplé à un appareil de chromatographie en phase gazeuse équipés d'un analyseur quadripolaire. L'introduction de l'échantillon a été une introduction directe pour une méthode d'analyse électrospray-ESI.

3- Résultats et discussion

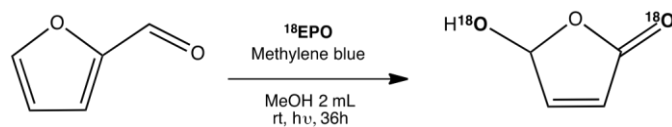
❖ Synthèse de l'endopéroxyde de 9,10-diphénylanthracène

L'endopéroxyde de 9,10-diphénylanthracène marqué à ^{18}O a été synthétisé en faisant réagir le 9,10-diphénylanthracène de manière stoechiométrique avec de $^{18}\text{O}_2$ dans du dichlorométhane. La réaction photochimique s'est déroulée sous irradiation lumineuse pendant 11 jours. Le produit final, après purification, a été obtenu sous la forme d'une poudre blanche-jaune avec un rendement de 98% (14,419 g). Les analyses par spectrométrie de masse ont montré un enrichissement isotopique en ^{18}O de 84% pour les deux oxygènes présents dans la molécule.

L'endopéroxyde de 9,10-diphénylanthracène marqué à ^{17}O a été synthétisé dans les mêmes conditions réactionnelles que précédemment. Le produit après purification par chromatographie sur colonne en gel d'alumine a été obtenu avec un rendement de 99% (14,690 g). L'enrichissement isotopique en ^{17}O , après analyse par spectrométrie de masse, est de 82% pour les deux oxygènes présents dans la molécule. La synthèse s'avère donc très efficace et le marquage isotopique fonctionne. Cette molécule, connue comme étant une source d'oxygène à l'état singulet [7] servira à marquer des molécules d'intérêts lors de réactions de cycloaddition ou de réactions d'oxydation.

❖ Synthèse de la 5-hydroxyfuranone

La 5-hydroxyfuranone a été une autre molécule d'intérêt que nous avons essayé de synthétiser à partir du furfural [7].



La synthèse a été effectuée afin d'obtenir la molécule souhaitée marquée avec l'¹⁸O. L'endopéroxyde de 9,10-diphénylanthracène précédemment synthétisé a été utilisé comme source d'oxygène marqué et la réaction s'est déroulée dans le système double chambre sous irradiation lumineuse. Le produit final a été obtenu avec un rendement de 93 % selon les conditions suivantes (Tableau 1) :

Tableau 1 : Conditions opératoires de synthèse de la 5-hydroxyfuranone

	M (g.mol ⁻¹)	m (mg)	n (mmol)	eq	V (mL)	Yield (%)
Furfural	96,09	28,83	0,3	1	0,025	
¹⁸ EPO	366,43	164,89	0,45	1,5	-	
Methylene blue	319,85	4,80	0,015	0,05	-	
MeOH	-	-	-	-	2	
5 hydroxy-2(5H) furanone	102	28,4	0,28	-	-	93

L'analyse par spectrométrie de masse confirme un enrichissement isotopique mais un seul atome d'oxygène est radiomarké (figure 3).

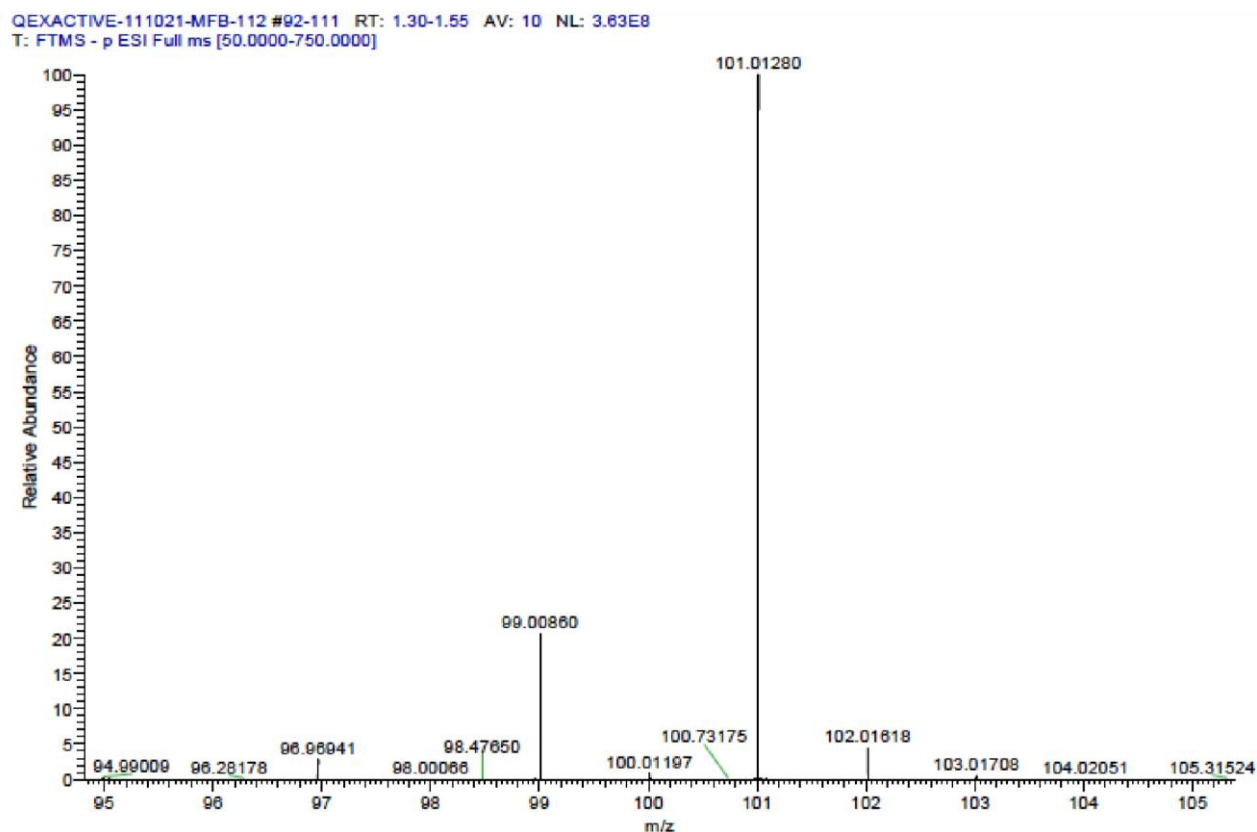


Figure 3 : Spectre de masse de la 5-hydroxyfuranone marquée à l'¹⁸O

La 5-hydroxyfuranone de formule brute C₄H₃O₃ a une masse molaire de 99 g/mol avec l'isotope naturel abondant de l'oxygène. Sur le spectre de masse, on voit que le composé majoritaire est un composé avec une masse molaire de 101 g/mol ce qui est en accord avec la présence d'un atome d'¹⁸O car : (12x4) + 3 + (2x16) + 18 = 101 g/mol. Ceci prouve bien l'efficacité de notre système novateur double chambre pour effectuer des réactions de cycloadditions par photochimie.

Cependant, cette découverte est en désaccord avec le mécanisme de synthèse décrit dans la littérature (figure 4) [8] car, normalement, deux atomes d'oxygène devraient être marqués.

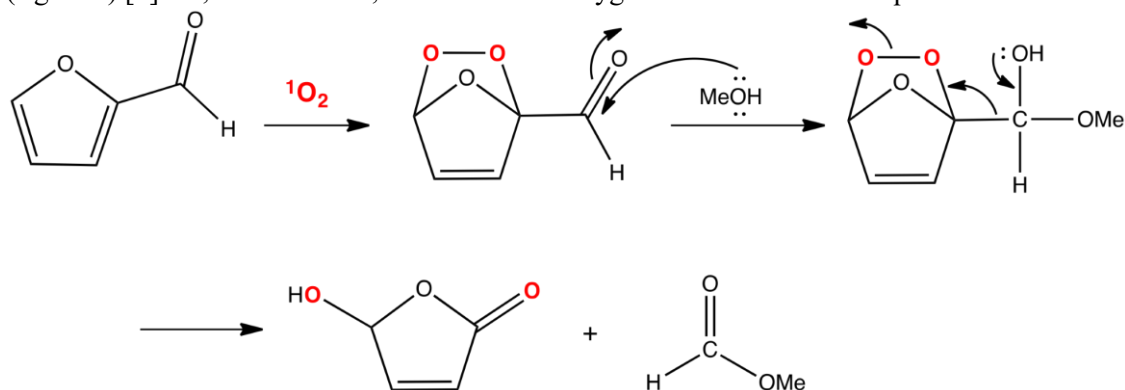


Figure 4 : Mécanisme de synthèse de la 5-hydroxyfuranone à partir du furfural.

Pour essayer de confirmer cette observation, la synthèse de la 5-hydroxyfuranone marquée à l' ^{17}O a été effectuée, dans les mêmes conditions opératoires que précédemment, afin de pouvoir effectuer le spectre RMN de l'oxygène du produit obtenu. Le produit final a été obtenu avec un rendement de 100 % et un enrichissement isotopique d'un seul atome d'oxygène de 84 %. Le spectre RMN de l' ^{17}O de la molécule produite a été effectué (figure 5).

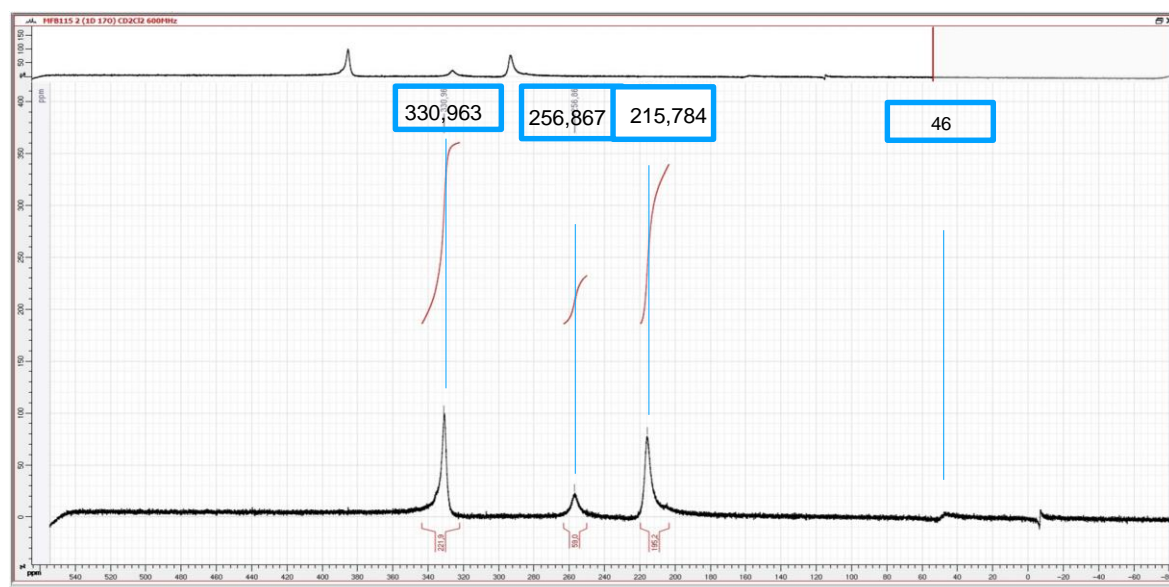


Figure 5 : Spectre RMN ^{17}O de la 5-hydroxyfuranone

Sur le spectre RMN, nous observons 4 pics différents indiquant 4 atomes d' ^{17}O . Après avoir effectué des recherches bibliographiques et dans des tables RMN, nous avons pu conclure qu'en réalité, notre molécule synthétisée est en équilibre chimique selon le schéma suivant (figure 6) :

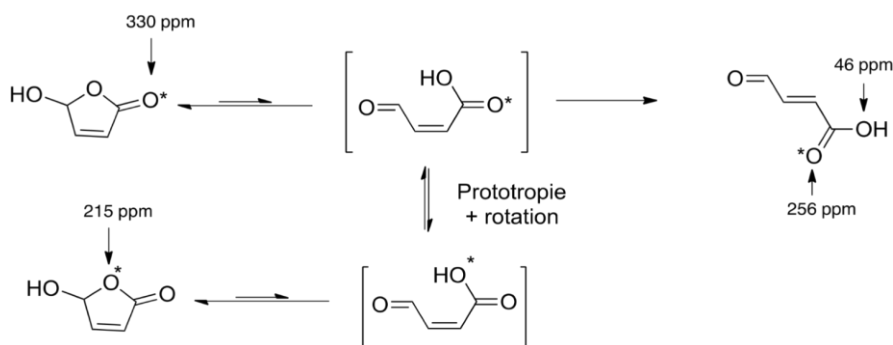


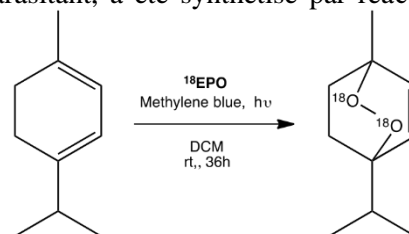
Figure 6 : Équilibre chimique de la 5-hydroxyfuranone

Le pic à 330,963 correspondrait à l'oxygène du carbonyle de la lactone qui serait en équilibre avec sa forme ouverte qui est un alcène cis. L'alcène cis, en s'isomérisant avec sa forme trans donne les pics à 256,867 ppm et 46 ppm en très faible quantité puisque l'équilibre avec la forme ouverte est plutôt favorable à la lactone qui est prédominante par rapport à la forme ouverte. L'alcène cis subit probablement une prototopie ce qui déplace l'oxygène marquée au niveau du groupement hydroxyde de l'acide carboxylique qui réagit pour reformer la lactone, avec cette fois-ci, l'oxygène lactonique marqué, d'où le pic à 215,784 ppm.

Ces analyses ont permis de comprendre les équilibres qui s'effectuent au niveau de la molécule formée et nous indique que le mécanisme décrit dans la littérature n'est pas exactement ce qui se passe, puisqu'à aucun moment, l'oxygène du groupement hydroxyde de la 5-hydroxyfuranone n'est marqué. Cette synthèse a permis d'apporter un plus quand à l'élucidation mécanistique qui reste à compléter et on a pu obtenir la 5hydroxyfuranone radiomarkée ce qui est intéressant puisque cette molécule est un synthon clé pour la synthèse totale de produits naturels et de composés biologiquement actifs.

❖ Synthèse de l'ascaridole

L'ascaridole, molécule naturelle retrouvée notamment dans l'huile essentielle de *Chenopodium Ambrosioides*, utilisée en médecine traditionnelle comme déparasitant, a été synthétisé par réaction



photochimique entre l'oxygène singulet et l'alpha-terpinène [7].

Les conditions de synthèse sont renseignées dans le tableau 2 :

Tableau 2 : Conditions de synthèse de l'ascaridole marquée à l'oxygène 18.

	M (g.mol ⁻¹)	m (mg)	n (mmol)	eq	V (mL)	Yield (%)
α-terpinène	136,24	45,31	0,3	1	0,055	
¹⁸ EPO	366,43	164,89	0,45	1,5	-	
Methylene blue	319,85	4,80	0,015	0,05	-	
MeOH	-	-	-	-	2	
Ascaridole	172	46,5	0,27	-	-	90

La réaction a eut lieu pendant 36 heures sous irradiation lumineuse rouge et le produit final a été obtenu, après purification par chromatographie sur colonne avec gel d'alumine, avec un rendement de 90 %. L'enrichissement isotopique avec présence de deux atomes d' ¹⁸O est de 50 %. L'expérience a été réalisée dans les mêmes conditions mais avec marquage à l' ¹⁷O et le rendement de la réaction était de 70 % et un enrichissement isotopique avec deux atomes d'oxygènes marqués de 42 %.

Le procédé de la réaction est donc efficace et il serait envisageable de suivre le métabolisme de cette molécule grâce à la présence de deux atomes d'oxygène isotopiquement marqués.

4- Conclusion

A travers cette étude, nous avons pu synthétiser l'endopéroxyde de 9,10-diphénylanthracène marqué aussi avec l' ¹⁷O que l' ¹⁸O, et qui a servi de source d'oxygène singulet, très réactif, pour synthétiser des molécules d'intérêt par photochimie. L'utilisation d'un système double chambre, système novateur qui permet d'avoir la source d'oxygène et le réactif avec le photosensibilisateur dans deux compartiments séparés mais dans un milieu hermétiquement fermé s'est avéré efficace. Plusieurs molécules ont pu être synthétisés avec des rendement très intéressant et avec un marquage effectif des atomes d'oxygène de la molécule. On a pu apporter des points nouveaux sur un mécanisme réactionnel

qui n'est cependant pas encore élucidé. Nous ambitionnons synthétiser des molécules complexes bio actives et isotopiquement marquées, ce qui permettrait de comprendre le métabolisme de ces molécules d'intérêt.

Bibliographie

- [1] *Radioisotopes in Biology: A Practical Approach*, Second edition; Slater, R. J., Ed; Oxford University Press: Oxford, **2002**, 130–263.
- [2] Lehmann, W. D. *Mass Spectrom. Rev.*, **2017**, *36*, 58.
- [3] Deborde, C.; Moing, A.; Roch, L.; Jacob, D.; Rolin, D.; Giraudeau, P. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.*, **2017**, *102-103*, 61.
- [4] Schellekens, R. C. A.; Stellaard, F.; Woerdenbag, H. J.; Frijlink, H.W.; Kosterink, J. G. W. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **2011**, *72*, 879.
- [5] Gómez-Gallego, M.; Sierra, M. *Chem. Rev.*, **2011**, *111*, 4857.
- [6] 17O-enriched methods. In *17O NMR Spectroscopy in Organic Chemistry*, Boykin, D. W., Ed; CRC Press: Boston, 1991, 21–38.
- [7] Carney et al., *Synthesys*, **2012**, *44*, 2560–2566
- [8] Castiglione et al., *Annu. Rep. NMR Spectrosc.* **2015**, *45*, 143–195

Étude physicochimique et profil en acides gras de l'huile des graines de *Polyalthia longifolia angustifolia*

Amavi Kpoezoun^{1*}, Kosi Mawuéna Novidzro², Gnon Baba^{1,3}.

¹ Laboratoire de Chimie Organique et des Substances Naturelles (LabCOSNat) ; 01 BP 1515, Université de Lomé-Togo

² Laboratoire de Génie des Procédés et des Ressources Naturelles (LAGEPREN) ; 01 BP 1515, Université de Lomé –Togo

³ Laboratoire de Gestion, Traitement et Valorisation des Déchets (GTVD) ; 01 BP 1515, Université de Lomé -Togo

* Auteur correspondant : Kpoezoun Amavi ; E-mail : kpoezoun@gmail.com

Résumé

Dans le contexte de la malnutrition ou de la sous-nutrition en évolution dans les pays pauvres, la diversification des ressources alimentaires reste une grande priorité pour l'OMS. La présente étude vise à déterminer la composition physicochimique et le profil en acide gras de l'huile extraite de la graine de *Polyalthia longifolia angustifolia*.

Le profil en acides gras de l'huile, extraite de la graine avec l'hexane par la méthode au Soxhlet, a été déterminé par analyse par GC/SM. Les paramètres physicochimiques de l'huile ont été mesurés selon les normes AFNOR.

Les résultats obtenus ont montré que l'huile renferme un taux plus élevé en acide oléique (63,38%), suivi par : acide palmitique (13,80%) ; acide linoléique (11,74%) et acide stéarique (6,24%). Les paramètres physicochimiques de l'huile ont donné des valeurs suivantes : indice de réfraction (1,499) ; indice d'acide (87,69 mg KOH/g huile) ; acidité (23,659 g d'acide oléique/100 g d'huile) ; indice d'iode (78,26 g I₂/100 g d'huile) ; indice de saponification (179,741 mg KOH/g d'huile) et indice de peroxyde (10,85 méq d'O₂/kg d'huile).

En définitive, cette huile présente des propriétés chimiques appréciables. Toutefois, l'étude sur sa toxicité est nécessaire pour envisager dans quels domaines elle peut être mieux valorisée.

Mots clés : *Polyalthia longifolia angustifolia*, graines, huile végétale, valorisation.

1. Introduction

Les bienfaits des huiles végétales sont connus depuis l'antiquité. Elles sont utilisées dans divers domaines, notamment en agro-alimentaire, en transport, en médecine et en cosmétique. En nutrition, les huiles végétales font partie des éléments essentiels de l'alimentation humaine (Cuvelier et Maillard, 2012). En effet, elles représentent la source d'énergie la plus importante pour l'homme et lui apporte les acides gras essentiels comme l'acide linoléique et l'acide alpha-linolénique dont il a besoin pour le bon fonctionnement de son organisme et le maintien de son équilibre nutritionnel (Rémita, 2001). Dans la plupart des pays pauvres exposés à l'insécurité alimentaire, la diversification des ressources alimentaires demeure l'une des grandes priorités pour l'OMS. Dans cette optique, la recherche exploratoire sur les oléagineux demeure axe stratégique nécessaire pour diminuer la faim dans le monde.

Polyalthia longifolia angustifolia est une plante qui trouve ses origines géographiques en Inde et au Sri Lanka. Elle a été acclimatée sur d'autres territoires notamment en Asie et même en Afrique de l'Ouest, en Afrique Centrale, en Afrique Orientale et au Madagascar. En général, elle se cultive pour servir comme arbre d'ornement, de protection contre le soleil (ombre) et de lutte contre la pollution sonore (Dixit *et al.*, 2014). Certains organes de cette plante, tels que les écorces, le tronc et les feuilles, ont fait l'objet de divers usages médicinaux ou phytosanitaires (Ghosh *et al.*, 2010). Ainsi, beaucoup d'études antérieures ont été menées en littérature sur les écorces et les feuilles de la plante (Mudhafar *et al.*, 2019). Cependant, peu d'études ont porté sur les racines de cette plante. De plus, à notre connaissance jusqu'à ce jour, ses graines n'ont pas encore été étudiées pour leur criblage phytochimique ; il en est de même pour ses fruits que l'homme ne consomme pas encore. Ils sont alors considérés comme des déchets et ne servent que de nourriture aux chauves-souris. Bien qu'elle soit méconnue jusqu'à présent comme une plante oléagineuse, peut-être à cause du faible taux en matière grasse que ses graines renferment, *Polyalthia longifolia angustifolia* est une plante dont l'huile végétale extraite des graines pourrait regorger des molécules à propriétés utiles pour l'homme.

La présente étude s'intéresse à la valorisation des graines de *P. l. angustifolia* en agroalimentaire à travers la détermination de la composition physicochimique et le profil en acide gras de l'huile extraite de la graine de *Polyalthia longifolia angustifolia*.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal

Les graines de *P.L. angustifolia* ont été récoltées durant le mois de mai 2019 à Agoé, une localité située dans la préfecture du Golfe, au Sud du Togo. Après trois semaines de séchage à l'abri de la lumière et à la température ambiante (28-30°C), les graines ont été manuellement décortiquées, concassées et ensuite broyées. La poudre obtenue a été introduite dans un flacon en plastique, fermé et conservé au congélateur pour des usages ultérieurs.

2.2. Criblage phytochimiques qualitatifs des graines

Les réactions de coloration et/ou de précipitation ont été utilisées afin de tester la présence des phytoconstituants comme : alcaloïdes, flavonoïdes, tanins, saponosides, composés réducteurs, et glucides (EL-Haoud *et al.*, 2018; (N'Guessan *et al.*, 2009)(Longanga Otshudi *et al.*, 2000).

2.3. Extraction de l'huile végétale brute des graines

L'hexane a été utilisé comme solvant pour extraire l'huile végétale brute (HVB) par la méthode au Soxhlet, à partir des graines de *P.L. angustifolia*.

2.4. Détermination des paramètres physicochimiques de l'HVB

L'indice de réfraction, l'indice d'acide, l'acidité, l'indice de saponification, indice d'iode et l'indice de peroxyde sont les paramètres physicochimiques qui ont été déterminés selon la norme AFNOR (1984) pour l'HVB des graines de *P.L. angustifolia*. Deux essais ont été effectués pour la mesure de chaque paramètre et le résultat a été exprimé sous forme de la moyenne calculée \pm l'erreur standard.

2.5. Analyse du profil en acides gras de l'HVB

2.5.1. Transméthylation de l'HVB pour l'analyse par GC-MS

Dans un tube à hémolyse muni d'un bouchon à vis, a été solubilisée une masse de 20 mg d'HVB dans 5 mL d'une solution méthanolique d'acide sulfurique (2,5%). Le mélange a été homogénéisé dans une ampoule, scellée puis chauffée pendant 90 min à l'étuve dont la température a été fixée à 80°C. Après le chauffage, il a été ajouté au mélange un volume de 1,5 mL d'une solution de chlorure de sodium (NaCl : 0,9%). Ensuite, après une agitation vigoureuse, un volume de 1,5 mL d'hexane a été ajouté à la solution finale pour en extraire les esters méthyliques d'acides gras formés.

2.5.2 Analyse par GC-MS des esters méthyliques d'acides gras préparés

L'échantillon d'esters méthyliques d'acides gras préalablement préparé a été analysé par chromatographie en phase gazeuse couplée avec la spectrométrie de masse (GC-MS). L'analyse a été faite à l'aide d'un chromatographe de type TRACE 1300 Séries GC, équipé d'une colonne capillaire DB5-MS (longueur : 50 m ; diamètre intérieur : 0.25 mm et épaisseur du film : 0.25 μ m), muni d'un injecteur automatique AIS/AS 1310 Autosampler et couplé à un spectrographe de masse ISQ MS Tune, muni d'un détecteur à impact d'électron. Le logiciel XCalibur a été utilisé pour l'acquisition des données. La température du spectrographe de masse a été fixée à 250°C. Les spectres ont été enregistrés avec 70 eV.

Les conditions d'analyses ont été fixées comme suit : température de l'injecteur a été réglée à 250 °C ; température du four a été initialement maintenue à 120 °C pendant 10 min, ensuite portée de 120 à 210 °C, à raison de 3 °C/ min et maintenue constante pendant 10 min ; ensuite elle a été portée à 300 °C à raison de 5 °C/ min et maintenue en isotherme pendant 2 min. L'hélium a servi comme gaz vecteur, avec un débit de 1 mL/min.

L'identification des acides gras contenus dans l'huile a été faite par comparaison de leurs spectres de masse avec ceux des composés contenus dans la base des données du logiciel XCalibur.

2.6. Analyses statistiques des données

Les données recueillies dans cette étude ont été saisies grâce au tableur Excel 2010 et traitées à l'aide du logiciel GraphPad Prism, version 8.4.3. Les différences entre les valeurs différentes mesurées ont été

considérées comme significatives au seuil de précision de 5%. Le résultat de chaque grandeur mesurée a été présenté sous forme de moyenne ± erreur standard de la moyenne.

3. Résultats

3.1. Nature des phytoconstituants présents dans les graines

Le criblage phytochimique réalisé qualitativement sur les graines de *P.L. angustifolia* a révélé la présence des composés phytochimiques (Tableau I), tels que : alcaloïdes, flavonoïdes, tanins, saponosides, composés phénoliques, composés réducteurs, glycosides cardiaques et glucides.

Tableau I : Les composés phytochimiques révélés dans les graines de *P. L. angustifolia*

Constituants phytochimiques	Graines de <i>P. L. angustifolia</i>
Alcaloïdes	+
Flavonoïdes	+
Tanins	+
Saponosides	+
Phénols	+
Composés réducteurs	+
Glycosides cardiaques	+
Glucides	+

+ = présence

3.2. Caractéristiques physicochimiques de l'HVB

Les résultats issus de la mesure des paramètres physicochimiques de l'HVB de *P.L. angustifolia* sont présentés dans le tableau II.

Tableau II : Indices de qualité de l'huile des graines de *P. L. angustifolia*

Paramètres mesurés	Résultats obtenus
Teneur en matière grasse (%)	5,00 ± 0,012
Indice de réfraction	1,499 ± 0,001
Indice d'acide (mg KOH/g d'huile)	87,69 ± 0,53
Acidité (g d'acide oléique/100 g d'huile)	23,659 ± 0,360
Indice de saponification (mg KOH/g d'huile)	179,741 ± 0,677
Indice d'iode (g I ₂ / 100 g d'huile)	78,26 ± 0,15
Indice de peroxyde (µg O ₂ /kg d'huile)	10,85 ± 1.55

3.3. Acides gras contenus dans l'huile

L'analyse par GC a permis d'obtenir le chromatogramme présenté sur la figure 3 et après détection par MS, les résultats fournis par le logiciel XCalibur sur la composition chimique en acides gras de l'HVB de *P.L. angustifolia* sont consignés dans le Tableau III.

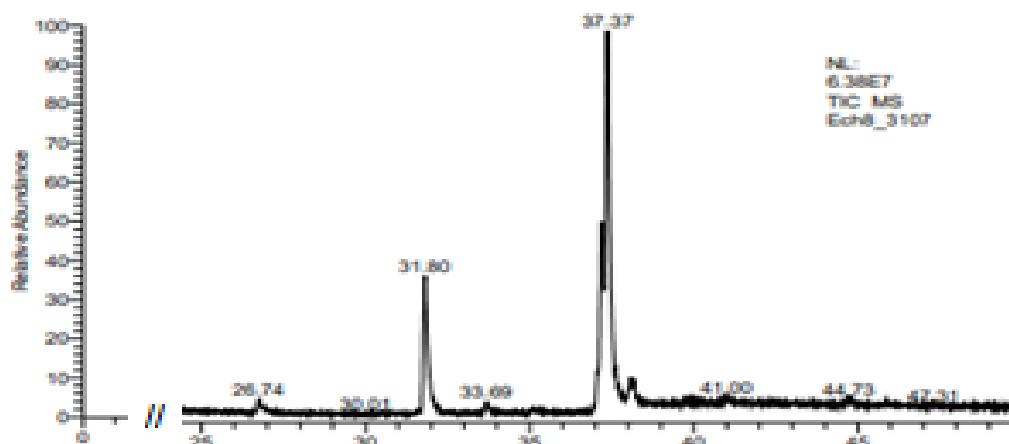


Figure 3 : Chromatogramme d'analyse par GC de l'HVB

Tableau III : Composition en acides gras de l'HVB des graines

Acides gras	Taux dans l'HVB
Acide myristique (C14 : 0)	0,02%
Acide palmitique (C16 : 0)	13,80%
Acide stéarique (C18 : 0)	6,24%
Acide oléique (C18 : 1 ω^9)	63,38%
Acide linoléique (C18 : 2 ω^6)	11,74%
Acides gras saturés (AGS)	20,06%
Acides gras insaturés (AGI)	74,12%
AGI/AGS	3,69

3.4. 4. Discussion

4.1. Composition en phytoconstituants des graines de *P.L. angustifolia*

Les graines de *P. L. angustifolia* contiennent divers groupes phytochimiques à savoir : les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tannins, les saponosides et les glucides (Tableau I). La présence de ces constituants phytochimiques montre que les graines de *P.L. angustifolia* constituent une source de biomolécules dont les caractérisations pourraient orienter leur utilisation à des fins thérapeutiques ainsi qu'à d'autres fins. La présence de divers métabolites secondaires dans les graines justifie alors l'usage de cette plante comme un remède traditionnel contre certaines maladies (Ghosh *et al.*, 2010). En effet, les écorces du tronc ont été utilisées pour traiter le diabète, puis pour baisser la tension artérielle et la fièvre (Dixit *et al.*, s. d.-b). En Inde, cette plante s'utilise en médecine traditionnelle comme un fébrifuge et un fortifiant (Ghosh *et al.*, 2011; Jothy *et al.*, 2013).

4.2 Caractéristiques physicochimiques de l'huile

La teneur en matière grasse des graines de *P.L. angustifolia* a été évaluée à 5,00 % montrant que le taux d'huile présente dans les graines est relativement très faible.

La valeur de l'indice de réfraction de l'huile des graines de *P.L. angustifolia*, soit 1,498, est supérieure à celle fixée par les normes du Codex Alimentarius pour les graisses et huiles alimentaires (1,463-1,478) (AFNOR, 1984). Ce qui montre que cette huile n'est pas adaptée pour la consommation alimentaire à l'état brute. Toutefois, elle se situe dans la gamme de l'indice de réfraction des huiles dites siccatives (1,480-1,523) et donc elle peut être classée parmi les huiles stables, très prisées par l'industrie de peinture (AFNOR, 1984).

L'huile de graines de *P. L. angustifolia* présente un indice d'acide relativement élevé, soit 87,69 mg KOH/g d'huile. Cette valeur est très supérieure à celles recommandées pour les graisses et les huiles alimentaires, soit entre 0,6 et 4,0 mg KOH/g d'huile (Codex Alimentarius, 2015). Ce qui implique que cette huile contient une quantité d'acides gras libres (AGL) assez importante. L'existence de ces AGL en quantité relativement importante est préjudiciable à sa conservation car l'huile est prédisposée à une plus grande facilité au rancissement. La teneur en AGL élevée pourrait être due à l'état de maturité des graines utilisées pour faire l'extraction ou à une réaction d'hydrolyse des esters de glycérol qui se produit au cours de l'extraction (chaleur) et de la conservation de l'huile (Tchiégang *et al.*, 2004). Il a été également découvert que les triacylglycérol-lipases sont des enzymes capables d'hydrolyser les triglycérides contenant des acides gras à longues chaînes en libérant des acides gras libres (Fickers *et al.*, 2005). Par ailleurs, en présence d'eau, les AGL initialement présents dans le milieu réactionnel agissent comme des catalyseurs pour la réaction d'hydrolyse qui se produit entre les triglycérides et l'eau en générant de nouveau, d'autres AGL dans le milieu d'extraction (Domonhédó *et al.*, 2018). Cependant, l'hydrolyse des esters est un processus qui se développe aussi essentiellement au cours du stockage et même en l'absence de toute activité enzymatique, dans une huile saturée en eau (Domonhédó *et al.*, 2018). Selon les normes de codex Alimentarius, une huile comportant au-delà de 5% d'AGL est considérée comme impropre à la consommation (AFNOR, 1984). Suivant ce critère, cette huile n'est pas comestible, puisqu'elle présente un taux en AGL très élevé (23,659%).

Il est reconnu que la stabilité d'une huile au cours de la conservation dépend de ses caractéristiques initiales et des conditions dans lesquelles le stockage se fait (Cuvelier & Maillard, 2012b). Toutefois, pour éviter la dégradation qualitative d'une huile, en particulier son rancissement, il faut procéder rapidement à l'extraction de l'huile tout juste après la récolte des graines. Dès lors, l'huile de *P.L. angustifolia* nécessite alors une étape postérieure de raffinage dont le rôle est donc de débarrasser d'elle des AGL et des impuretés. Cependant, au cours du raffinage, des précautions doivent être prises pour éviter de détruire certains constituants utiles comme les caroténoïdes et les vitamines (Véronique *et al.*, 2009.) afin de conserver les valeurs nutritionnelles de l'huile.

La valeur de l'indice d'iode de l'huile, soit $78,26 \pm 0,15 \text{ g I}_2/100 \text{ g d'huile}$, montre qu'elle renferme assez d'acides gras insaturés. Cette valeur est inférieure à celle de l'huile des graines de *Polyalthia longifolia pendula*, soit $95 \text{ g I}_2/100 \text{ g d'huile}$ obtenue par Oyedjeji *et al.* (2011). Elle est tout de même relativement proche aux valeurs de l'indice d'iode des huiles d'olive et d'arachide, soit respectivement 75 et $94 \text{ I}_2/100 \text{ g d'huile}$ (Codex Alimentarius, 2009). En se basant sur la valeur d'indice d'iode de cette huile relativement élevée, on peut dire qu'elle possède donc une grande sensibilité au rancissement oxydatif (Olanrewaju et Moriyike, 2013). Par conséquent, il est judicieux de prendre des précautions nécessaires afin de garantir une bonne stabilité pour cette huile pendant sa conservation afin de réduire les risques liés aux réactions d'auto-oxydation.

Dans cette étude, la valeur d'indice de saponification de pour l'HVB de *P. l. angustifolia* est de l'ordre de $179,741 \text{ mg KOH/g d'huile}$ (Tableau II). Cette valeur est inférieure n'est pas contenue dans la fourchette indiquée par la norme du Codex Alimentarius (AFNOR, 1984) pour les graisses et huiles alimentaires, variant entre 189 et $195.2 \text{ mg KOH/g d'huile}$. La faible valeur de cet indice s'expliquerait par la forte proportion d'acide gras à longues chaînes carbonées dans l'huile. Toutefois, cette valeur n'est pas relativement loin de celle de l'huile d'olive, soit $187-196 \text{ mg KOH/g d'huile}$ (Bart *et al.*, 2010). Par contre, cette elle est très supérieure à celle de l'huile de *Polyalthia longifolia pendula*, soit $120 \text{ mg KOH/g d'huile}$ (Oyedjeji *et al.*, 2011).

A partir de la valeur de l'indice de saponification de notre huile, on pourrait alors la classer parmi les corps gras destinés aux applications en cosmétique.

L'indice de peroxyde de l'HVB des graines de *P. L. angustifolia* étudiées ici a été de $10,85 \pm 1,55 \mu\text{g O}_2/\text{kg d'huile}$ (Tableau II). Cette valeur est supérieure à celle indiquée par la norme des huiles conventionnelles (Codex Alimentarius, 2015), soit $10-15 \mu\text{g O}_2/\text{kg d'huile}$. La double liaison contenue dans la chaîne carbonée d'un acide gras constitue un point vulnérable et rend cet acide susceptible de subir des réactions d'oxydation ou de peroxydation (Rémita, 2001). Ces réactions d'oxydation sont extrêmement complexes et conduisent à la formation de produits de nature variable.

4.3. Acides gras contenus dans l'huile

L'huile de *P. l. angustifolia* constitue une excellente source des acides gras insaturés (AGI), composés majoritairement d'acide oléique (63,38%) et d'acide linoléique (11,74). Par contre, cette huile renferme 20,06% d'acides gras saturés (AGS) dont l'acide palmitique est le plus important, avec une teneur de l'ordre de 13,80%. Le ratio AGI/AGS étant de 3,69, cela démontre combien de fois les AGI sont considérablement plus représentatifs par rapport aux AGS.

Cette huile est comparable à l'huile d'olive dont le taux en acide oléique est compris entre 50 et 80% (Choi *et al.*, 2010). L'acide oléique, est le plus abondant acide gras monoinsaturé constituant une excellente source d'énergie pour notre organisme. Il a pour rôle de protéger le système cardiovasculaire en diminuant la tension artérielle. Il atténue aussi le taux du mauvais cholestérol tout en augmentant le taux de bon cholestérol (Teres *et al.*, 2008). Il possède aussi une activité antibactérienne très intéressante (Cfaithoi *et al.*, 2010). Du fait qu'il ne peut pas être synthétisé par notre organisme, il a été reconnu comme un acide gras essentiel pour lui être apporté par l'alimentation. Sa principale fonction est de diminuer le taux de cholestérol. De plus, il a une propriété anti-cancérogène, une activité anti-athérosclérose et il diminue l'obésité (Corino *et al.*, 2006). L'acide palmitique présent dans l'HVB, joue un rôle nécessaire au bon fonctionnement de notre organisme en se combinant à nos cellules (foie, pancréas, estomac) pour améliorer leur fonctionnement. Il est fourni grâce à un apport énergétique en provenance de notre alimentation ou de la synthèse par notre foie (Carta *et al.*, 2017).

Conclusion

Le présent travail a permis de déterminer la composition phytochimique des graines et d'apprécier les propriétés physicochimiques, le profil en acides gras et le pouvoir antioxydant de l'HVB des graines de *P. l. angustifolia*. Dans l'ensemble, les valeurs des différents paramètres physicochimiques mesurés ont montré que cette huile n'est pas propice pour une éventuelle consommation alimentaire pour l'homme. En effet, les valeurs des indices d'acide, d'iode et de peroxyde montrent que l'huile est très sensible à l'oxydation et par conséquent, des précautions nécessaires doivent être prises au cours de sa conservation afin de préserver ses caractéristiques initiales. En raison de sa forte acidité, cette huile ne saurait être utilisée comme huile alimentaire sans aucun traitement au préalable. Comme l'huile possède une capacité antioxydante assez intéressante, son utilisation pour faire d'autres applications peut être bénéfique pour l'homme.

Références

- Anderson, K. J., Teuber, S. S., Gobeille, A., Cremin, P., Waterhouse, A. L., & Steinberg, F. M. (2001). Walnut Polyphenolics Inhibit In Vitro Human Plasma and LDL Oxidation. *The Journal of Nutrition*, 131(11), 2837-2842. <https://doi.org/10.1093/jn/131.11.2837>
- Association française de normalisation. (1984). *Corps gras, graines oléagineuses, produits dérivés*. AFNOR.
- Bart, J. C. J., Palmeri, N., & Cavallaro, S. (2010). Emerging new energy crops for biodiesel production. In *Biodiesel Science and Technology* (p. 226-284). Elsevier. <https://doi.org/10.1533/9781845697761.226>
- Carta, G., Murru, E., Banni, S., & Manca, C. (2017). Palmitic Acid: Physiological Role, Metabolism and Nutritional Implications. *Frontiers in Physiology*, 8, 902. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00902>
- Choi, S.-G., Won, S.-R., & Rhee, H.-I. (2010). Oleic Acid and Inhibition of Glucosyltransferase. In *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention* (p. 1375-1383). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374420-3.00153-4>
- Corino, C., Pastorelli, G., Douard, V., Rossi, R., Musella, M., & Mourot, J. (2006). L'acide linoléique conjugué en nutrition porcine. *Productions animales*, 19(1), 39-46.
- Cuvelier, M.-E., & Maillard, M.-N. (2012a). Stabilité des huiles alimentaires au cours de leur stockage. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 19(2), 125-132. <https://doi.org/10.1051/ocl.2012.0440>
- Cuvelier, M.-E., & Maillard, M.-N. (2012b). Stabilité des huiles alimentaires au cours de leur stockage. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 19(2), 125-132. <https://doi.org/10.1051/ocl.2012.0440>
- Dixit, P., Mishra, T., Pal, M., Rana, T. S., & Upreti, D. K. (s. d.-a). *POLYALTHIA LONGIFOLIA AND ITS PHARMACOLOGICAL ACTIVITIES: REVIEW*. 9.
- Dixit, P., Mishra, T., Pal, M., Rana, T. S., & Upreti, D. K. (s. d.-b). *POLYALTHIA LONGIFOLIA AND ITS PHARMACOLOGICAL ACTIVITIES: REVIEW*. 9.
- Domonhédó, H., Cros, D., Nodichao, L., Billotte, N., & Ahanhanzo, C. (2018). Enjeux et amélioration de la réduction de l'acidité dans les fruits mûrs du palmier à huile, *Elaeis guineensis* Jacq. (Synthèse bibliographique). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 13.
- EL-Haoud, H., Boufellous, M., & Berrani, A. (s. d.). *SCREENING PHYTOCHIMIQUE D'UNE PLANTE MEDICINALE: Mentha Spicata* L. 8.
- Fickers, P., Fudalej, F., Dall, M. T. L., Casaregola, S., Gaillardin, C., Thonart, P., & Nicaud, J. M. (2005). Identification and characterisation of LIP7 and LIP8 genes encoding two extracellular triacylglycerol lipases in the yeast *Yarrowia lipolytica*. *Fungal Genetics and Biology*, 42(3), 264-274. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2004.12.003>
- Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes: Structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytotherapie*, 3(4), 162-169. <https://doi.org/10.1007/s10298-005-0096-8>
- Ghosh, G., Kar, D. M., Subudhi, B. B., & Mishra, S. K. (2010). *Anti-hyperglycemic and antioxidant activity of stem bark of Polyalthia longifolia var. Angustifolia*. 12.
- Ghosh, G., Subudhi, B. B., Banerjee, M., & Mishra, S. K. (s. d.). *A new clerodane-type γ -hydroxybutenolide diterpene from the bark of Polyalthia longifolia var. Angustifolia*. 4.
- Jothy, S. L., Chen, Y., Kanwar, J. R., & Sasidharan, S. (2013). Evaluation of the Genotoxic Potential against H₂O₂-Radical-Mediated DNA Damage and Acute Oral Toxicity of Standardized Extract of *Polyalthia longifolia* Leaf. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 1-13. <https://doi.org/10.1155/2013/925380>
- Longanga Otshudi, A., Vercruyse, A., & Foriers, A. (2000). Contribution to the ethnobotanical, phytochemical and pharmacological studies of traditionally used medicinal plants in the treatment of dysentery and diarrhoea in Lomela area, Democratic Republic of Congo (DRC). *Journal of Ethnopharmacology*, 71(3), 411-423. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(00\)00167-7](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(00)00167-7)
- Mudhafar, M., Zainol, I., Desa, S., & Jaafar, C. N. A. (s. d.). Mini-review of Phytochemistry for *Polyalthia Longifolia*. *Eurasian Journal of Analytical Chemistry*, 29.

- Nair, V. D. P., Dairam, A., Agbonon, A., Arnason, J. T., Foster, B. C., & Kanfer, I. (2007). Investigation of the Antioxidant Activity of African Potato (*Hypoxis hemerocallidea*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(5), 1707-1711. <https://doi.org/10.1021/jf0619838>
- N'Guessan, K., Kadja, B., Zirihi, G., Traoré, D., & Aké-Assi, L. (2009). Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Kroubo (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences & Nature*, 6(1). <https://doi.org/10.4314/scinat.v6i1.48575>
- Olanrewaju, A. S., & Moriyike, O. E. (s. d.). Physicochemical Characteristics and the Effect of Packaging Materials on the Storage Stability of Selected Cucurbits Oils. *American Journal of Food and Nutrition*, 4.
- Ollivier, D., Boubault, E., Pinatel, C., Souillol, S., Guèrère, M., & Artaud, J. (s. d.). *Analyse de la fraction phénoliques des huiles d'olive vierges*. 18.
- OMS | Normes alimentaires internationales (Codex Alimentarius)*. (s. d.). WHO; World Health Organization. Consulté 27 novembre 2020, à l'adresse http://www.who.int/foodsafety/areas_work/food-standard/fr/
- Oyedeji, F. O., Adeleke, B. B., & Akintola, C. B. (2011). Physicochemical and Fatty Acid Profile Analysis of *Polyalthia longifolia* Seed Oil. *Trends in Applied Sciences Research*, 6(6), 614-621. <https://doi.org/10.3923/tasr.2011.614.621>
- Rémita, S. (2001). De la peroxydation lipidique radioinduite : Les facteurs déterminant l'oxydabilité des lipides. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 79(2), 144-153. <https://doi.org/10.1139/y00-091>
- Tchiégang, C., Ngo Oum, M., Aboubakar Dandjouma, A., & Kapseu, C. (2004). Qualité et stabilité de l'huile extraite par pressage des amandes de *Ricinodendron heudelotii* (Bail.) Pierre ex Pax pendant la conservation à température ambiante. *Journal of Food Engineering*, 62(1), 69-77. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(03\)00172-9](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(03)00172-9)
- Teres, S., Barcelo-Coblijn, G., Benet, M., Alvarez, R., Bressani, R., Halver, J. E., & Escriba, P. V. (2008). Oleic acid content is responsible for the reduction in blood pressure induced by olive oil. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(37), 13811-13816. <https://doi.org/10.1073/pnas.0807500105>
- Véronique, G., Vila, A. J., Peggy, D., Jeroen, M., & Wim, D. G. (s. d.). *Future prospects for palm oil refining and modifications*. 8.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64(4), 555-559. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2)

Evaluation des teneurs en antioxydants et Identification structurale par HPTLC/CLHP-SM/SM de caroténoïdes de la variété BF59XCIP1 de *Ipomoea batatas L.*

Dominique Saga Kaboré^{1(*)}, Adama Héma¹, Raoul Bazié², Moumouni Koala^{1,3}, Koussao Somé⁴, Elie Kabré², Eloi Palé¹, Issa T. Somé⁵, Pierre Duez⁶, Mouhoussine Nacro¹

¹Laboratoire de Chimie Organique et de Physique Appliquées, Université Joseph KI-ZERBO, 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso

²Laboratoire National de Santé Publique 09 BP 24 Ouagadougou 09, Burkina Faso

³Institut de Recherche en Sciences de la Santé (IRSS/CNRST) 03 BP 7192 Ouagadougou 03, Burkina Faso

⁴CNRST/INERA, Département Productions Végétales, 03 BP 7047 Ouagadougou 03 Burkina Faso

⁵Laboratoire de Chimie Analytique et de Toxicologie, UFR/ Sciences de la Santé, Université Joseph Ki-Zerbo, Burkina Faso

⁶Service de Chimie Thérapeutique et de Pharmacognosie, Université de Mons, 25 Chemin du Champ de Mars, 7000 Mons, Belgique

Résumé :

Les patates douces à chair orange constituent une importante source de nutriments pour les consommateurs grâce aux caroténoïdes qu'elles contiennent. En effet, les caroténoïdes sont des composés bioactifs, dont les propriétés anti-radicalaires, peuvent protéger le corps humain contre le stress oxydatif à l'origine de nombreuses maladies dégénératives, telles que le cancer, la cécité, le vieillissement. Cette étude vise à évaluer les teneurs en antioxydants de la variété BF59XCIP1 à chair orange obtenue par croisement de variétés adaptées aux conditions agroécologiques locales d'une part et d'autre part à identifier les caroténoïdes de cette variété. Des extraits au système de solvant acétone- eau- acide acétique (70 : 29,5 : 0,5 v/v/v) ont été préparés pour l'évaluation des teneurs en antioxydant. En effet, les teneurs en antioxydants par les méthodes DPPH et FRAP ont été estimés respectivement à 0,082 mg d'ET/g et 0,183 mg d'ET/g de matériel végétal. L'identification structurale des caroténoïdes est réalisée sur des extraits à l'hexane. En effet, les principaux caroténoïdes ont été identifiés par des couplages HPTLC-SM et CLHP-SM/SM. L'analyse des deux spots majeurs par HPTLC-MS a permis d'identifier trois composés. Ce sont la β -cryptoxanthine, la zéaxanthine, et le β -carotène. L'analyse en CLHP-MS/MS a permis d'identifier quatre composés dont la capsanthine, l'echinenone, l' α -tocophérol et le β -carotène.

Mots clés : caroténoïdes ; antioxydant ; CLHP-MS/MS, HPTLC-MS.

Evaluation of antioxidant contents and structural identification by HPTLC/CLHP-MS/MS of carotenoids of *Ipomoea batatas L.* variety BF59XCIP1.

Abstract: Orange-fleshed sweet potatoes are an important source of nutrients for consumers thanks to the carotenoids they contain. Indeed, carotenoids are bioactive compounds, whose anti-free radical properties can protect the human body against oxidative stress, which is the cause of many degenerative diseases, such as cancer, blindness and ageing. This study aims to evaluate the antioxidant content of the orange-fleshed BF59XCIP1 variety obtained by crossing varieties adapted to local agro-ecological conditions and to identify the carotenoids in this variety. Extracts in the acetone-water-acetic acid solvent system (70:29.5:0.5 v/v/v) were prepared for the evaluation of antioxidant contents. Indeed, the antioxidant contents by DPPH and FRAP methods were estimated at 0.082 mg TE/g and 0.183 mg TE/g of plant material, respectively. The structural identification of carotenoids is performed on hexane extracts. Indeed, the main carotenoids were identified by HPTLC-MS and HPLC-MS/MS couplings. The analysis of the two major spots by HPTLC-MS allowed the identification of three compounds. These are β -cryptoxanthin, zeaxanthin, and β -carotene. HPLC-MS/MS analysis identified four compounds including capsanthin, echinenone, α -tocopherol and β -carotene.

Keywords: carotenoids; antioxidant; HPLC-MS/MS, HPTLC-MS.

1. Introduction

Les caroténoïdes sont des métabolites secondaires, c'est-à-dire des composés synthétisés par les végétaux. Ils appartiennent à la famille des terpénoïdes et regroupent deux grandes classes de composés : les carotènes et les xanthophylles. Les caroténoïdes sont présents dans grand nombre de fruits et légumes (oranges, tomates, carottes, épinards, patatesdouces, citrouilles) et sont souvent responsables des couleurs vives de ces fruits et légumes [1]. De par leurs propriétés colorantes, les caroténoïdes jouent un rôle important dans la physiologie de la plante. certains caroténoïdes sont des précurseurs de la vitamine A, ce qui constitue l'une de leur plus importante fonction physiologique [2]. Une corrélation a été établie entre la consommation de légumes et des fruits riches en caroténoïdes et la prévention de

plusieurs maladies chroniques dégénératives, tels que le cancer, les maladies inflammatoires, les maladies cardiovasculaires, la cataracte, et la dégénération, entre autres [3] grâce à leurs propriétés antioxydantes. Vue l'importance de ces caroténoïdes, leurs analyses qualitative et quantitative dans la PDCO en vue de la vulgarisation de leur consommation dans le cadre de la lutte contre l'avitaminose A s'avère nécessaire. L'objectif de ce présent travail est d'identifier et d'évaluer les teneurs en antioxydants de la variété BF59XCIP1 de *Ipomoea batatas L.*

2. Matériels et méthodes

2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de la variété BF59XCIP1 de patate douce à chair orange. Cette variété dont les boutures ont été fournies par l'INERA, a été produite dans le jardin expérimental du LCOPA à l'Université Joseph Ki-Zerbo.

2.2. Méthodes

2.2.1. Extraction

Pour l'analyse qualitative, 30 g du matériel végétal broyé ont été extraits successivement avec 100 mL, 50 mL et 50 mL d'hexane par macération. Les filtrats obtenus ont été rassemblés pour la saponification. En effet, 30 % de KOH dans du méthanol a été ajouté à l'extrait brut. Le mélange est laissé au repos à la température ambiante pendant 3 heures à l'abri de la lumière. Après un partage liquide-liquide dans une ampoule à décanter par l'hexane, la phase organique obtenue a été concentrée à sec et utilisée pour les différentes analyses.

Pour l'évaluation des teneurs en antioxydants, des extraits au système de solvant acétone- eau-acide acétique (70 : 29,5 : 0,5 v/v/v) ont été préparés. En effet, 5 g de tubercules broyées sont mis en macération à l'aide d'un sonicator pendant 1h dans 10 mL du système de solvant. Après filtration deux autres extractions ont été réalisées avec 5 mL du même système pendant 30 min. les filtrats ont été rassemblés pour le dosage.

2.2.2. Evaluation des teneurs en antioxydants

Les teneurs en antioxydants totaux ont été déterminées par spectrophotométrie en utilisant deux des trois méthodes couramment utilisées. La méthode au 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) et celle du Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP). Ces méthodes sont basées sur différents mécanismes chimiques. En effet, la méthode au DPPH mesure la capacité d'un antioxydant à piéger le radical DPPH°[4] par un transfert d'électron de l'échantillon antioxydant. La méthode FRAP, elle, évalue le pouvoir réducteur d'un échantillon.

Méthode au DPPH : Cette méthode mesure l'absorbance de la solution décolorée du radical DPPH° par l'activité d'une quantité de l'échantillon étudié. En effet, 50 µL de chaque extrait sont ajoutés à 200 µL du réactif de DPPH. Après 10 minutes d'incubation, les absorbances sont lues à 515 nm en utilisant un lecteur microplaque (spectrophotomètre MP96, SAFAS). Les absorbances des échantillons étudiés sont rapportées sur une courbe-étalon ($y = -14,194x + 0,6017$; $R^2 = 0,9997$) préalablement établie en utilisant le Trolox comme antioxydant de référence. Les teneurs sont ainsi exprimés en mg d'équivalents de Trolox par gramme de matériel végétal frais. Toutes les mesures sont répétées trois fois.

Méthode FRAP : dans cette méthode, un sel ferrique, le Fe(III)(TPTZ)₂Cl₃ (TPTZ= 2,4,6-tripyridyl-s-triazine) est utilisé comme oxydant[4],[5]. L'absorbance de la décoloration bleue intense à 595 nm est mesurée avec un lecteur microplaque (spectrophotomètre MP96, SAFAS). En effet, au mélange 30 µL d'eau distillée et 20 µL de chacun des échantillons convenablement dilués, 200 µL du réactif FRAP sont ajoutés. Une courbe-étalon est établie en utilisant le Trolox comme antioxydant de référence. Les résultats, déterminés à partir de l'équation de la courbe-étalon ($y = 18,957x + 0,2917$; $R^2 = 0,9985$), ont été exprimés en mg d'Equivalents de Trolox (ET) par gramme de matériel végétal. Toutes les mesures sont répétées trois fois.

2.2.3. Analyse par HPTLC-MS

La chromatographie a été réalisée sur une plaque de gel de silice 60 F254 HPTLC de 20 cm x 10 cm (Merck, Allemagne). La phase mobile est le système éther de pétrole-acétone- acétate d'éthyle (85 : 15 : 5 v/v/v). En effet, 5 µL et 6 µL d'extraits saponifiés ont été appliqués en bandes de 5 mm avec

l'échantillonneur automatique de chromatographie sur couche mince (CCM) vision CAT (CAMAG). Le spectromètre de masse utilisée pour l'identification des caroténoïdes dans les extraits de PDCO est un Quadrupole Time of Flight (QTOF, série 6520) équipé d'une source d'ionisation par Electro-Spray en mode positif (ESI+). Les spectres de masse ont été obtenus dans une gamme de masse de m/z 400-600. Les paramètres MS étaient les suivants : gaz de collision est l'hélium ; température capillaire, 250°C.

2.1.1. Analyse par CLHP-MS/MS

La CLHP couplée à spectrométrie de masse en tandem par ionisation par Electro-Spray en mode positif (CLHP-ESI-MS/MS) a été utilisée dans cette étude pour l'identification et la caractérisation des caroténoïdes. En effet, un système CLHP de type Agilent Technologie infinitely better 1290 a été utilisé pour la séparation chromatographique. Il est muni d'une colonne en phase inverse C18 de type water X-terra de longueur 100 mm et de diamètre 2,1 mm dont la taille des grains est de 5 µm. L'élution a été réalisée avec une phase mobile A (acétonitrile ; méthanol 85 : 15 v/v + 0,1 % acide formique), une phase mobile B (eau+ 0,1 % acide formique). Le gradient d'élution en fonction du temps exprimé en pourcentage de volume de la phase mobile A, et de la phase mobile B a été programmé comme suit : 0 à 7 min, 95 % de A ; 8 à 15 min, 100 % de A. Le débit a été maintenu à 1 mL/min et la température de la colonne à 25°C.

3. Résultats et discussion

3.1. Teneurs en antioxydants

Les teneurs en antioxydants de la variété locale BF59XCIP1 de la PDCO sont exprimés en mg d'ET/g de matériel végétal. Ainsi ces teneurs sont de 0,082±0,002 et de 0,183±0,001 respectivement par les méthodes DPPH et FRAP. Ces valeurs sont significativement différentes. Cette différence pourrait s'expliquer par leurs mécanismes réactionnels. En effet, la méthode au DPPH mesure la capacité d'un antioxydant à piéger le radical DPPH°[4] par un transfert d'électron de l'échantillon antioxydant. Cependant, la méthode FRAP évalue le pouvoir réducteur de l'échantillon. Les teneurs en antioxydants évaluées par la méthode DPPH relativement faible pourrait également être expliqué par la structure du radicale DPPH°.

3.2. Identification des caroténoïdes majoritaires par HPTLC-MS

L'identité des bandes dans le chromatogramme de l'extrait a été confirmée en outre par spectrométrie de masse, c'est-à-dire par l'utilisation de l'interface Camag TLC-MS, qui permet un couplage direct de la TLC au MS.

Deux spots majoritaires ont été analysés. Les spots 1 et 2 de références frontales respectives R_f= 0,3 et 0,87 (figure 1).

L'analyse en MS du spot 1 (R_f= 0,3) montre deux pics correspondant à deux ions moléculaires à m/z 537,4 et 569,4 nommés respectivement A et B (figure 2). L'ion moléculaire à m/z 537,4 (≈537) correspond à la masse calculée à partir de la formule C₄₀H₅₆. Les composés tels que la β, la α-carotène ou le lycopène possèdent la même formule brute. Le composé A peut être soit la β ou α-carotène, ou le lycopène. L'ion moléculaire à m/z 569,4 (569) correspond à la masse calculée à partir de la formule C₄₀H₅₆O₂. Il s'agit soit de la lutéine ou de la zéaxanthine. En effet, la lutéine et la zéaxanthine ne diffèrent que par la position d'une double liaison sur les cycles (figure 3). Le composé B pourrait donc être soit la lutéine ou la zéaxanthine.

L'analyse du spectre de masse (HPTLC-MS) du spot 2 (R_f= 0,87) révèle trois pics correspondant à des ions moléculaires à m/z 537,4 ; 553,7 et 568,5 notés respectivement C, D et E (figure 2). Comme dans le cas du spot 1, l'ion moléculaire à m/z 537,4 (≈537) correspond à la masse calculée à partir de la formule C₄₀H₅₆. Les masses des caroténoïdes tels que le lycopène, β, γ et α-carotène correspondent à cette formule brute. Le composé C serait soit le lycopène ou l'un des isomères. Mais, il a été montré par plusieurs travaux que le β-carotène (figure 5) est majoritaire dans les PDCO [6][7]. Le composé C pourrait correspondre au β-carotène. L'ion moléculaire à m/z 553,7 pourrait correspondre à l'un des isomères de la cryptoxanthine (La β-cryptoxanthine et l'α-cryptoxanthine) de formule C₄₀H₅₆O (figure 4). Le composé D pourrait être identifié comme étant l'un de ces isomères. L'ion moléculaire à m/z 568,5 (≈569) correspond à la masse calculée à partir de la formule C₄₀H₅₆O₂. La lutéine et la zéaxanthine (figure 3) sont deux caroténoïdes correspondant à cette formule brute. De plus, des travaux antérieurs

ont déjà montré la présence de ces caroténoïdes dans les PDCO [6]. Le composé E peut être identifié comme l'un de ces deux caroténoïdes.

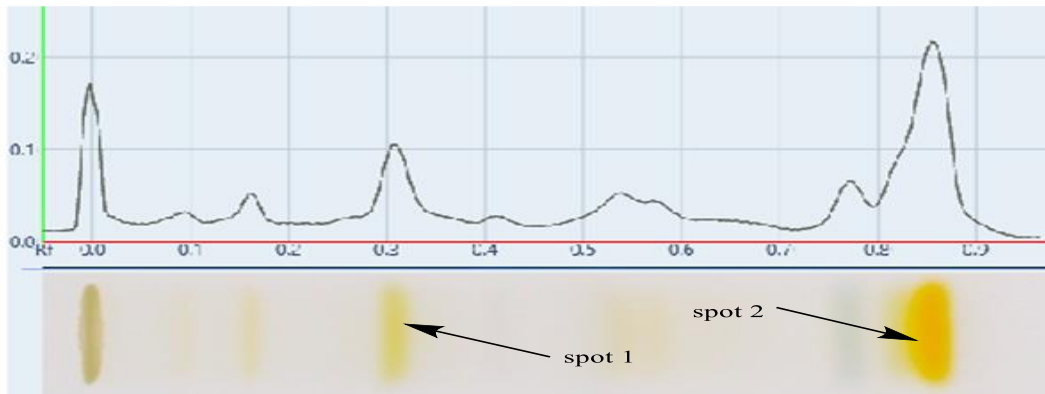


Figure 38: spectre HPTLC de la variété BF59XCIP1

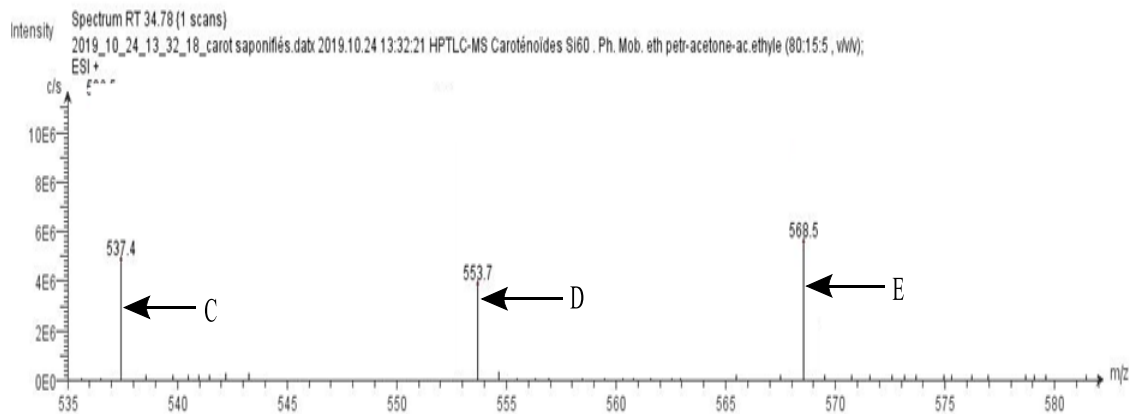
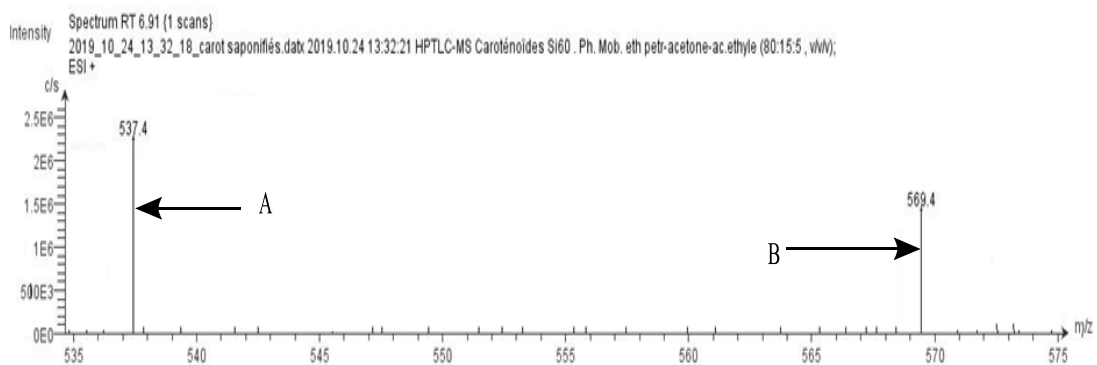


Figure 39: spectre HPTLC des spots 1 et 2 de la variété BF59XCIP1

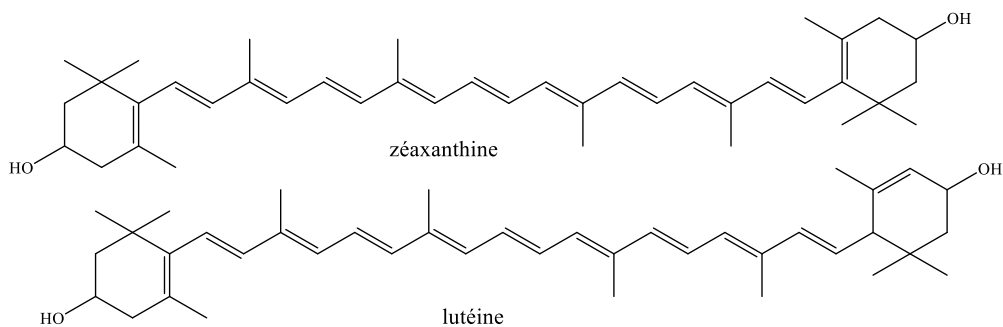


Figure 40: structures de la zéaxanthine et de la lutéine

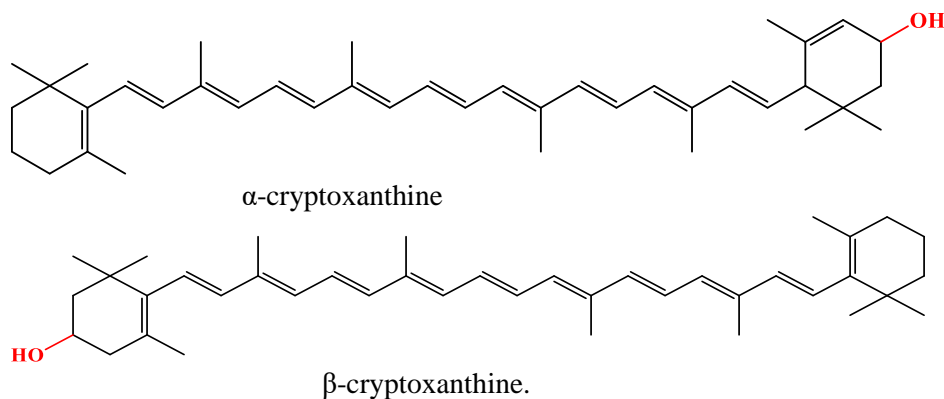


Figure 41: structures de β -cryptoxanthine et de α -cryptoxanthine

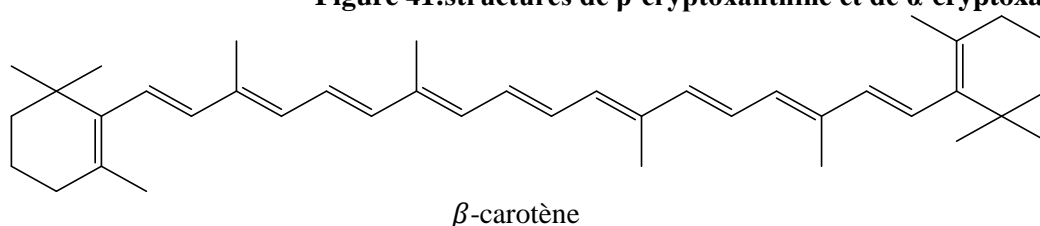


Figure 42: structures du β -carotène

3.3. Identification des composés de la variété BF59XCIP1 par CLHP - SM/SM

La méthode LC-MS/MS permet de caractériser les caroténoïdes présents sous forme de composants mineurs dans plusieurs fruits, ce qui a été démontré par l'analyse d'extraits d'ananas (*Physalis peruviana*), de kiwan (*Cucumis metuliferus*), de mangue (*Mangifera indica*) et de potiron (*Cucurbita pepo*) [8]. L'identification des différents isomères de caroténoïdes est basée sur le modèle de fragmentation caractéristique. L'analyse chromatographique a permis d'identifier quatre pics notés **1**, **2**, **3** et **4** de temps de rétention respectifs 0,788 ; 0,94 ; 3,33 et 9,652 min correspondant à quatre composés (figure 6). Ces pics correspondent en LC-MS à des ions moléculaires respectivement à m/z : 585 ; 551 ; 431 et 537. La séquence observée des pics chromatographiques reflète la polarité décroissante des composés élués, les xanthophylles plus polaires sont éluées en premier. Cela est lié à la polarité de la phase mobile utilisée dans notre cas. Les intensités des pics correspondant aux ions moléculaires sont plus intenses que ceux des ions fragments. Cela pourrait s'expliquer par l'énergie de collision utilisée lors de leurs fragmentations. Cela pourrait même expliquer l'absence de certains fragments de ces ions moléculaires.

L'ion moléculaire à m/z 585 correspond à la masse calculée à partir de la formule $C_{40}H_{56}O_3$. Il correspond au composé le plus polaire. La présence des trois atomes d'oxygène pourrait justifier cette polarité. L'analyse en LC-MS/MS de cet ion moléculaire donne un ion fragment à m/z 249 correspondant à $[M+H-C_{24}H_{32}O]^+$ (figure 7). Ce composé **1** serait la capsanthine (figure 8).

L'ion moléculaire à m/z 551,200 correspond à la masse calculée à partir de la formule $C_{40}H_{54}O$. Les caroténoïdes (xanthophylles) ont le même chromophore. La différence des temps de rétention entre les ions moléculaires à m/z 551 et 585 s'explique par la différence du nombre d'atomes d'oxygène. Ainsi, l'ion moléculaire à m/z 551 posséderait donc moins d'atome d'oxygène que celui de 585. En plus, le spectre MS/MS de cet ion moléculaire donne un ion fragment à m/z 459. Cet ion fragment correspond à la perte du toluène C_7H_8 $[M+H-C_7H_8]^+$ (figure 9). Ce composé **2** peut être identifié comme étant l'échinénone (figure 10).

De l'analyse des chromatogrammes général et individuel, les pics correspondant aux masses 413 et 431 possèdent les mêmes temps de rétention (figure 100). Le pic correspondant à m/z 413 pourrait correspondre donc à l'ion fragment de l'ion moléculaire à m/z 431. Cet ion fragment correspond à la perte d'une molécule d'eau $[M+H-H_2O]^+$. De plus, l'ion fragment à m/z 301 correspond à la perte d'une molécule d'eau et d'une molécule C_8H_{17} $[M+H-H_2O-C_8H_{17}]^+$ (figure 100). Ce composé **3** peut être identifié comme le α -tocophérol (5,7,8-triméthyltolcol) encore appelé vitamine E (figure 11).

Le temps de rétention $t_R=9,65$ min correspondant au pic **4** du chromatogramme montre que l'ion moléculaire correspondant est moins polaire par rapport aux trois autres ions. Cet ion moléculaire pourrait appartenir au sous-groupe des carotènes. En spectrométrie de masse cet ion moléculaire donne

une masse à m/z 537 correspondant à la masse calculée à partir de formule $C_{40}H_{56}$ et deux ions fragments à m/z 415 $[M+H-C_9H_{15}]^+$ et 282 $[M+H-C_{19}H_{27}]^+$ (figure 12). Les masses du lycopène, β , γ et α -carotène correspondent à cette formule brute. Le composé 4 serait soit le lycopène ou l'un des isomères. Dans la littérature, la présence de ces composés a déjà été signalée dans les PDCO. Mais de ces travaux, il ressort que le β -carotène est le composé majoritaire[6]. Le composé **4** peut être identifier comme étant le β -carotène (figure 13).

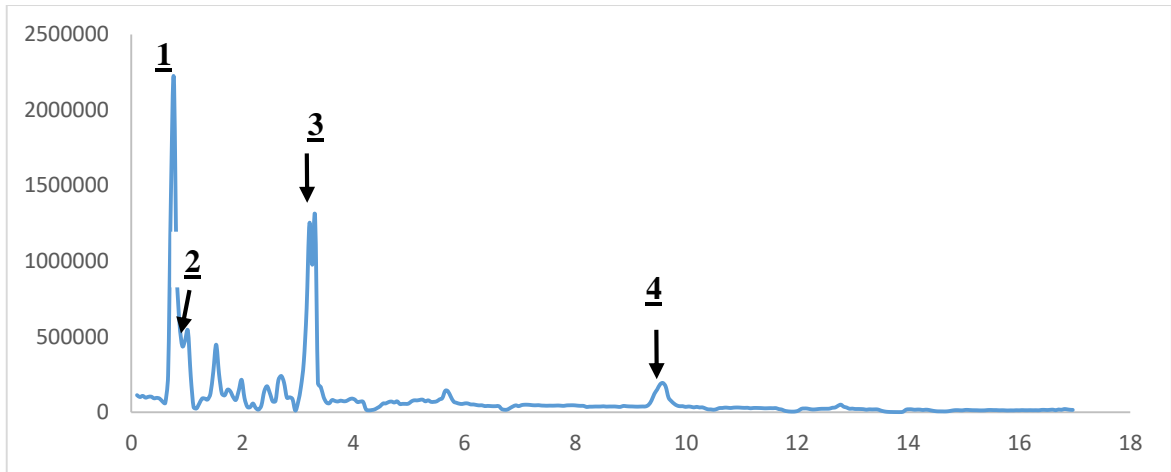


Figure 43: chromatogramme de l'extrait de la variété BF59XCIP1

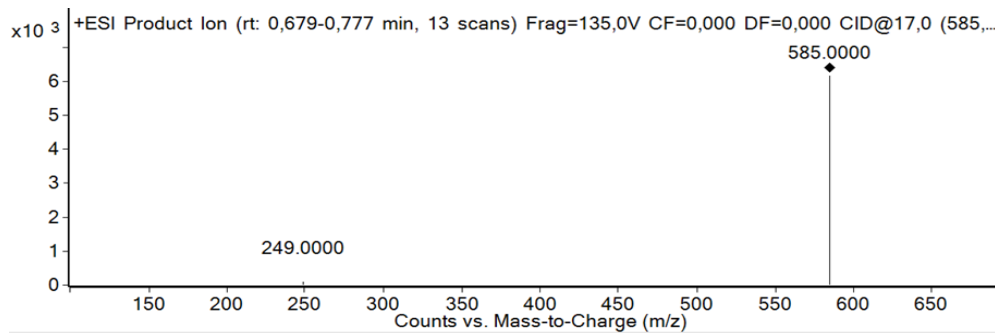


Figure 44: spectre SM/SM de la capsanthine

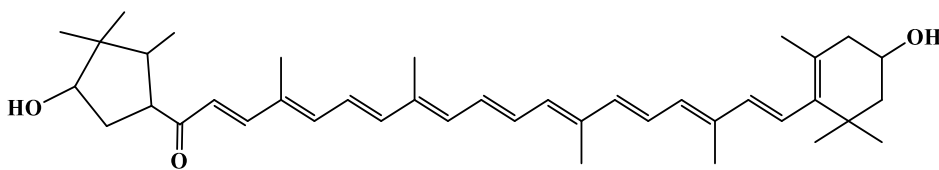


Figure 45: structure de la capsanthine

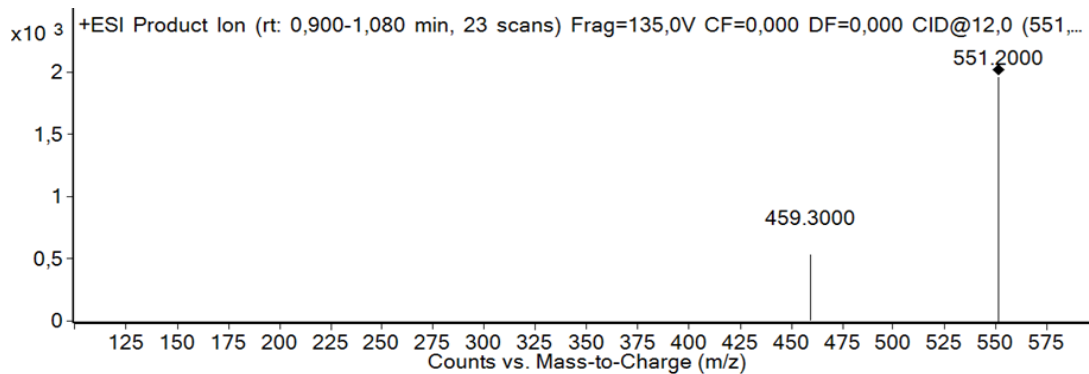


Figure 46: spectre SM/SM de l'echinenone

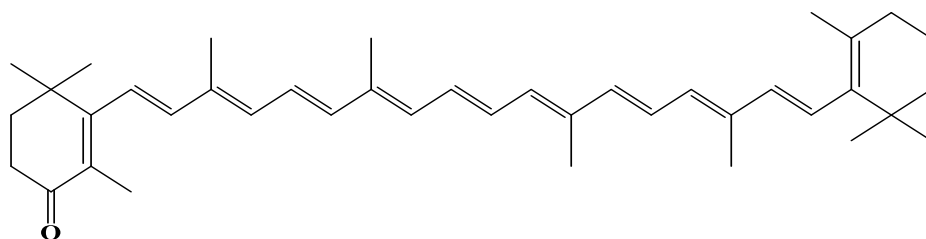


Figure 47: Structure de l'echinenone

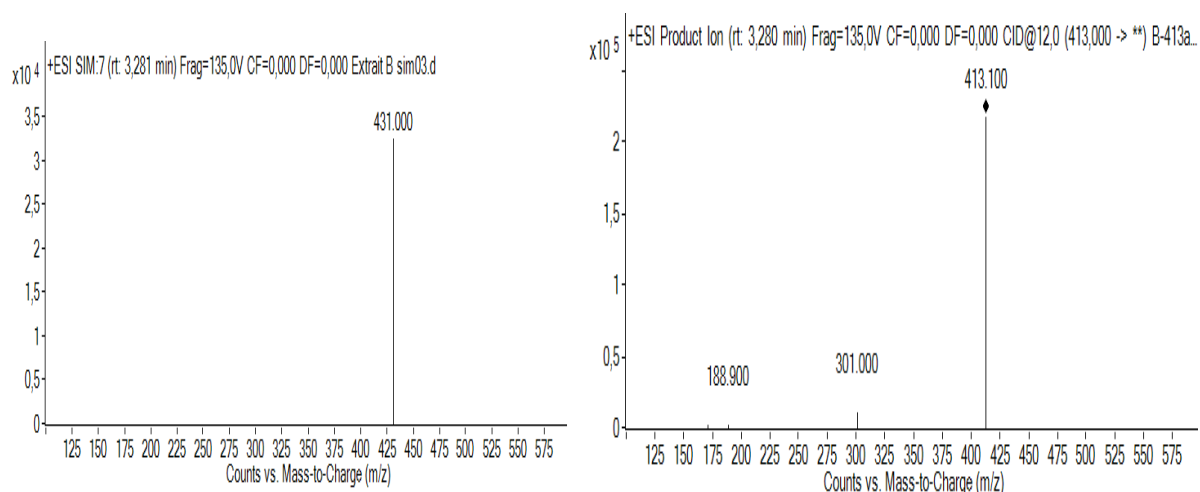


Figure 48: spectre de masse du composé 3

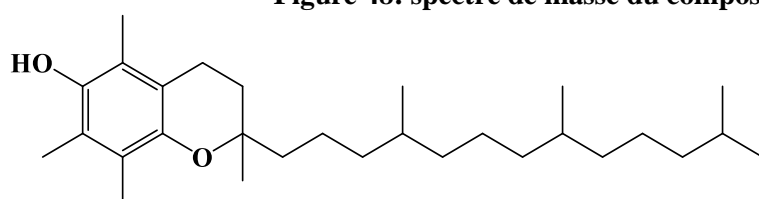


Figure 49: structure de α -tocophérol

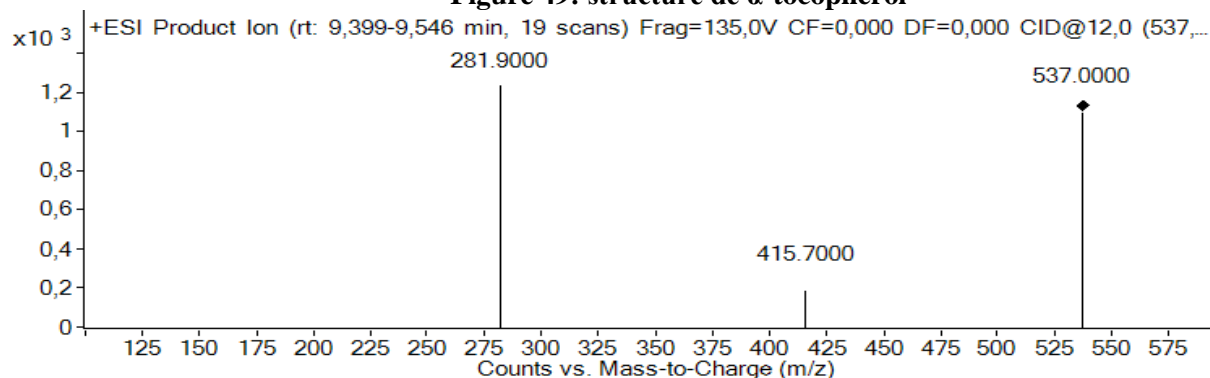


Figure 50: spectre SM/SM du β -carotène

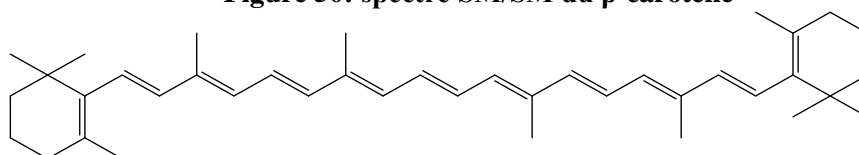


Figure 51: structure du β -carotène

Conclusion

L'analyse quantitative des teneurs en antioxydants a été réalisée par deux des trois méthodes couramment utilisées. Il s'agit des méthodes DPPH et FRAP. En effet, les teneurs en antioxydants sont de 0,082 et de 0,183 mg d'ET/ g de matériel végétal respectivement par les méthodes DPPH et FRAP. De l'analyse qualitative, quatre molécules de caroténoïdes ont été identifiées ; ce sont : la zéaxanthine

l'α-cryptoxanthine, *l'α-tocophérol* et le *β-carotène*. Il ressort que ces variétés renferment la vitamine E, un puissant antioxydant et le *β-carotène*, une molécule possédant une activité provitaminique A.

Références bibliographiques

- [1] R. Sol, M. C. Paul, and C.-G. and Ramon, “identification of carotenoids using massspectrometry,” *Wiley Online Libr.*, pp. 33(5):353-372, 2013.
- [2] C. Vilchez, F. Eduardo, C. María, B. Francisco, G. Inés, and V. and José, M, “Marine Carotenoids: Biological Functions and Commercial Applications,” *Mar. Drugs*, pp. 9(3): 319–333, 2011.
- [3] M. Guerin, M. Huntley, and M. Olaizola, “Haematococcus astaxanthin: Applications for human health and nutrition,” *Trends Biotech*, pp. 21;210–216, 2003.
- [4] H. Tapiero, D. Tew K, G. Nguyen, Ba, and G. Mathe, “Polyphenols: do they play a role in the prevention of human pathologies.,” *Biomed. Pharmacother*, pp. 56, 200–207, 2002.
- [5] B. IF and J. Strain, “The ferric reducing ability of plasma as a measure of ‘antioxidant power’: the FRAP assay.,” *Anal. Biochem*, pp. 239, 70–76, 1996.
- [6] T. Somé, Issa *et al.*, “Validation d’une méthode de dosage des caroténoïdes par CLHP : application à la détermination de teneur en caroténoïdes dans dix variétés de patates douces (*Ipomea batata*),” *C. R. Chim.* 7, pp. 1063–1071, 2004.
- [7] M. Kimura, C. N. Kobori, R.-A. Delia B, and N. Penelope, “Screening and HPLC methods for carotenoids in sweetpotato, cassava and maize for plant breeding trials,” *Food Chem.*, vol. 100 (2007), 2007.
- [8] I. Pott, D. Breithaupt, and R. Carle, “Detection of unusual carotenoid esters in fresh mango (*Mangifera indica* L. cv. ‘Kent’).,” *Phytochemistry*, pp. 64; 8–25, 2003.

Étude phytochimique et évaluation des teneurs en polyphénols, en flavonoïdes et en antioxydants totaux de *a. Hispidum* et *t. Procumbens* acclimatées au burkina faso.

Arouna Ganamé¹, Constantin M. Dabiré^{1,5}, Remy K. Bationo^{1,3}, Moumouni Koala^{1,2}, Harouna Soré⁴, Hema Adama¹, Eloi Palé¹, Nebie C.H. Roger³ et Mouhoussine Nacro¹

¹Laboratoire de Chimie Organique et de Physique Appliquées (L.C.O.P.A.), Université Joseph KI-ZERBO, UFR/SEA, Département de Chimie 03 BP 7021 Ouagadougou 03 Burkina Faso.

²Institut de Recherche en Sciences de la Santé, Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique (IRSS/CNRST), 03 BP 7047 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

³CNRST/IRSAT/ Département Substances Naturelles, 03 BP 7047 Ouagadougou 03 Burkina Faso.

⁴Centre National de Recherche et de Formation sur le Paludisme (CNRFP), 01 BP 2208 Ouagadougou 01 Burkina Faso.

⁵Laboratoire de Chimie et Energie Renouvelables, Université Nazi BONI, 01 BP 1091 Bobo 01, Burkina Faso.

Résumé

Les flavonoïdes, tanins, caroténoïdes, saponines et les alcaloïdes ont été recherchés dans les extraits à l'hexane, au dichlorométhane, à l'acétate d'éthyle et au méthanol de *Acanthospermum hispidum* et *Tridax procumbens*

La première partie de cette valorisation consiste à évaluer la teneur des composés phénoliques totaux ainsi que la teneur des flavonoïdes totaux des différents extraits. La méthode utilisée pour déterminer la teneur des composés phénoliques totaux est celle de Folin-Ciocalteu. La teneur en flavonoïdes totaux est déterminée par la méthode utilisant le AlCl₃ décrit par Woisky et Salatino en 1998. Des courbes d'étalonnage ont été construites à partir des solutions d'acide gallique et de la quercétine respectivement pour la détermination de la teneur en composés phénoliques totaux et en flavonoïdes totaux. Les activités antioxydantes ont été évaluées par la méthode au DPPH•. Une courbe étalon a été établie à partir du trolox. Les teneurs ont été exprimées en mg EAG/ g d'extrait et en mg EQ/ g d'extrait respectivement pour la teneur en composés phénoliques totaux et celle de flavonoïdes totaux et en mg ET/g d'extrait pour la teneur en antioxydants totaux.

Un choix peut être fait sur les extraits selon les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes totaux et en antioxydants totaux.

Mots clés : *Acanthospermum hispidum*, *Tridax procumbens*, phytochimie, antioxydants totaux.

Abstract

The flavonoïdes, tannins, caroténoïdes, saponines and the alkaloids were sought-after in the excerpts to the hexane, to the dichloromethane, to the acetate of ethyl and to the methanol of *Acanthospermum hispidum* and *Tridax procumbens*

The first left from this valorization consists to value the content of the compounds total phénoliques as well as the content of the total flavonoïdes of the different excerpts. The method used to determine the content of the total polyphénols is the one of Folin-Ciocalteu. The content in total flavonoïdes is determined by the method using the AlCl₃ describes by Woisky and Salatino in 1998. Curves of standardization have been constructed respectively from the solutions of acid gallic and the quercétine for the determination of the content in compounds total phénoliques and in total flavonoïdes. The activities antioxydantes was assessment by the method in the DPPH•. The contents have been expressed in EAG mg / g of excerpt and in EQ mg / g of excerpt respectively for the content in compounds total phénoliques and the one of total flavonoïdes.

A choice can be made on the excerpts according to the contents in total polyphénols, in total flavonoïdes and in antioxydants.

Keywords: *Acanthospermum hispidum*, *Tridax procumbens*, phytochemicals contents, total antioxidants.

1.Introduction

Le recours aux plantes par les hommes dans plusieurs domaines de la vie quotidienne reste remarquable malgré les progrès technologiques et modernes. Ainsi les plantes occupent une place importante dans la vie des êtres humains car elles contribuent énormément à les nourrir, à les soigner, à les abriter ect. Selon l'organisation mondiale de la santé, plus de 80 % de la population ont recours aux plantes pour se soigner ^[1]. Elles constituent une source potentielle de phyto-médicaments car malgré les progrès considérables constatés dans le domaine de la chimie organique de synthèse, plus de 25 % des médicaments prescrits dans nos formations sanitaires dérivent directement ou indirectement des plantes ^[1].

Les polyphénols participent et/ou renforcent la défense immunitaire contre le stress oxydatif, prévenant ainsi l'organisme contre les diverses pathologies chroniques et les maladies cardio-vasculaires qui en découlent [2, 3].

Les antioxydants d'origine synthétique employés actuellement en médecine conventionnelle sont remis en cause pour des raisons de risques toxicologiques [4,5,6,7]. Face à ce constat, des travaux sont davantage axés vers la recherche d'antioxydants naturels [8,9]. C'est dans ce cadre que suite à une enquête ethnobotanique, nous avons choisi pour notre étude, *Acanthospermum hispidum* et *Tridax procumbens*, deux plantes médicinales utilisées traditionnellement au Burkina Faso dans le traitement du paludisme pour lesquelles à notre connaissance très peu de travaux ont été réalisés sur le plan chimique. À l'issue de cette étude, une étude phytochimique des plantes cibles est réalisée. Ainsi après un screening chimique, les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes totaux ainsi qu'en antioxydants totaux seront évaluées.

2. Matériel et Méthodes

2.1. Matériel Végétal

Le matériel végétal est constitué de feuilles de *Acanthospermum hispidum* et de *Tridax procumbens* récoltées respectivement en Août 2020 dans la zone de Gondologo à Ouahigouya, une ville du Burkina Faso et en Octobre 2020 au sein de l'université Joseph KI-ZERBO à Ouagadougou. Les deux plantes ont été identifiées par le botaniste Docteur Herman OUOBA, enseignant-chercheur à l'université Nazi BONI de Bobo. Les feuilles des deux plantes, après récolte et lavage à l'eau, ont été séchées sous ventilation pendant une semaine puis pulvérisées à l'aide d'un broyeur électrique en de fines poudres.

2.2. Méthodes

2.2.1. Préparation des extraits

100 g de poudre matériel végétal de chaque plante ont été extraits successivement avec 3× 300 mL de chacun des solvants suivants : hexane, dichlorométhane, acétate d'éthyle et le méthanol, par macération pendant 24 h. Les macérats ont été filtrés et les filtrats ont été concentrés presque à sec, sous pression réduite, à 33°C à l'aide d'un évaporateur rotatif. Les extraits sont récupérés dans des boîtes de pétri puis séchés à l'étuve à 37 °C et conservés au réfrigérateur à 4°C jusqu'à l'analyse.

2.2.2. Criblage Phytochimique

Le criblage phytochimique a été réalisé sur des plaques chromatographiques (60 F254, support-aluminium, 20×20, Fluka-Silica /gel de silice) suivant les méthodes décrites dans la littérature [10, 11]. Selon le type de métabolites secondaires à identifier, des réactifs spécifiques ainsi que différents systèmes de solvants appropriés ont été utilisés. [12, 13, 14, 15] Les différents protocoles de mise en évidence des groupes chimiques recherchés sont réunis dans le tableau 1.

Tableau 1 : protocole de mise en évidence par chromatographie sur couche mince (CCM) de quelques familles chimiques.

Groupes chimiques	Systèmes de solvant	Réactifs de révélation	Fluorescences observées
Flavonoïdes	Acétate d'éthyle /acide formique/acide acétique glaciale/ eau (100 : 11 : 11 : 26 v/v)	Réactif de Neu (2-amino-éthyl-diphénylboronate + Polyéthylène glycol (PEG) 4000)	Bleue ; jaune ; orange
Tanins	Eau / méthanol/ butanol / acide acétique glaciale/ (3,5 : 1,25 : 10 : 1,25 v/v)	FeCl ₃ à 2 % (m/V) dans une solution hydroalcoolique (50 %)	Bleu-verdâtre ; vert-noirâtre
Alcaloïdes	Toluène/ acétate d'éthyle / diéthylamine (70 : 20 : 10 v/v)	Réactif de Dragendorff (tétraiodobismuthate de potassium)	Orange
Saponines	Hexane/ acétate d'éthyle /méthanol/ (35 : 10 : 5)	anisaldéhyde sulfurique puis chauffer à 110°C	Rouge-violette
Caroténoïdes	Éther de pétrole / acétone/ dichlorométhane (3 : 1 : 1)	Néant	Jaune-orangée

2.2.3 Détermination des teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux

2.2.3.1 Teneur en polyphénols totaux

La teneur en composés phénoliques totaux a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu telle que décrite par Singleton et al. [16].

60 µL du réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois) sont ajoutés 60 µL de chaque extrait convenablement dilué. Le tout est incubé pendant 8 min à la température ambiante Puis 120 µL d'une solution de carbonate de sodium à 7,5% sont ajoutés au mélange réactionnel. Après 30 min d'une nouvelle incubation à la température de 37°C, les absorbances ont été mesurées à 760 nm.

Mais avant une courbe d'étalonnage est préalablement établie en utilisant l'acide gallique comme référence. Les teneurs en polyphénols totaux ont été déterminées en rapportant les absorbances à l'équation de la courbe d'étalonnage et les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait. [17]

2.2.3.2 Teneurs en flavonoïdes totaux

Les teneurs en flavonoïdes totaux des extraits ont été estimés en utilisant la méthode de Woisky et Salatino (1998).

Dans cette méthode, 120 µL d'une solution de AlCl₃ à 2% dans l'éthanol sont ajoutés à 120 µL de chaque extrait convenablement dilué. Après 1 h d'incubation à la température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 420 nm. Les teneurs en flavonoïdes totaux ont été calculées à partir de l'équation de la courbe de calibrage de la quercétine ; les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ / g).

2.2.4 Teneurs en antioxydants totaux par DPPH•

La teneur en antioxydants de chaque extrait est déterminée en utilisant le radical DPPH• et en suivant la méthode de Brand-Williams et al.

A 120 µL de la solution méthanolique de DPPH• de concentration 4. 10⁻² mg/ mL sont ajoutés à chaque solution diluée des différents extraits. Après 10 minutes d'incubation à la température ambiante et à l'abri de la lumière, les absorbances sont lues à 510 nm à l'aide d'un spectrophotomètre de type SAFAS. Les teneurs en antioxydants sont obtenues en rapportant les absorbances des extraits sur la courbe d'étalonnage préétablie du trolox. Les résultats sont exprimés en mg d'équivalent de trolox par gramme d'extrait (mg ET/g)

3. Résultats et Discussion

3.1 Préparation des extraits

Les résultats de l'extraction sont consignés dans le **tableau 2**. Au total huit extraits sont obtenus et les rendements d'extraction varient entre 0,68 et 9,43 %. Les rendements sont meilleurs avec le méthanol où l'extrait de *Acanthospermum hispidum* affiche le meilleur rendement de 9,43%. Après les extraits méthanoliques, suivent ceux au dichlorométhane et à l'hexane. Ici aussi les rendements d'extraction sont meilleurs pour *Acanthospermum hispidum*.

Les faibles rendements d'extraction sont obtenus avec les extraits à l'acétate d'éthyle, où *Acanthospermum hispidum* enregistre maintenant le faible pourcentage de 0,68 %.

3.2. Criblage phytochimique

Nous avons mis en évidence dans les drogues étudiées, la présence de caroténoïdes, de flavonoïdes, de tanins, de saponines et d'alcaloïdes (**tableau 3**).

Tous les composés recherchés donnent des fluorescences telles que jaune, orange, verte, bleue, violette et rouge à UV-366 nm ou au visible [10 ; 11 ; 19 ; 20 ; 21 ; 22]. Aux fins de spécification, les révélateurs spécifiques sus-citées (**Tableau 1**) ont été employés pour les distinguer. De ce fait, nous notons la présence des flavonoïdes uniquement dans les extraits méthanoliques et les extraits à l'acétate d'éthyle (**figure D**). Également, les extraits méthanoliques renferment majoritairement différents groupes de tanins avec un nombre important de spots fluorescents et beaucoup plus intenses (**figure B**). Quant aux saponines, aux caroténoïdes et les alcaloïdes, ils ont été détectés dans tous les extraits (**figures C, A et E**). L'extrait AH1 contient une famille de composés qui possède la même référence frontale que le bêta-carotène. Cette famille pourrait alors correspondre au bêta-carotène (**figure A**).

Tableau 2 : Types d'extraits et leurs rendements d'extraction

Nom de la plante	Solvants utilisés	Codes des extraits	Rendement (%)	d'extraction
<i>Tridax procumbens</i>	Hexane	TP1	1,29	
	Dichlorométhane	TP2	1,18	
	Acétate d'éthyle	TP3	0,84	
	Méthanol	TP4	4,46	
<i>Acanthospermum hispidum</i>	Hexane	AH1	1,98	
	Dichlorométhane	AH2	2,03	
	Acétate d'éthyle	AH3	0,68	
	Méthanol	AH4	9,43	

Tableau 3 : résultats des CCM des différents extraits.

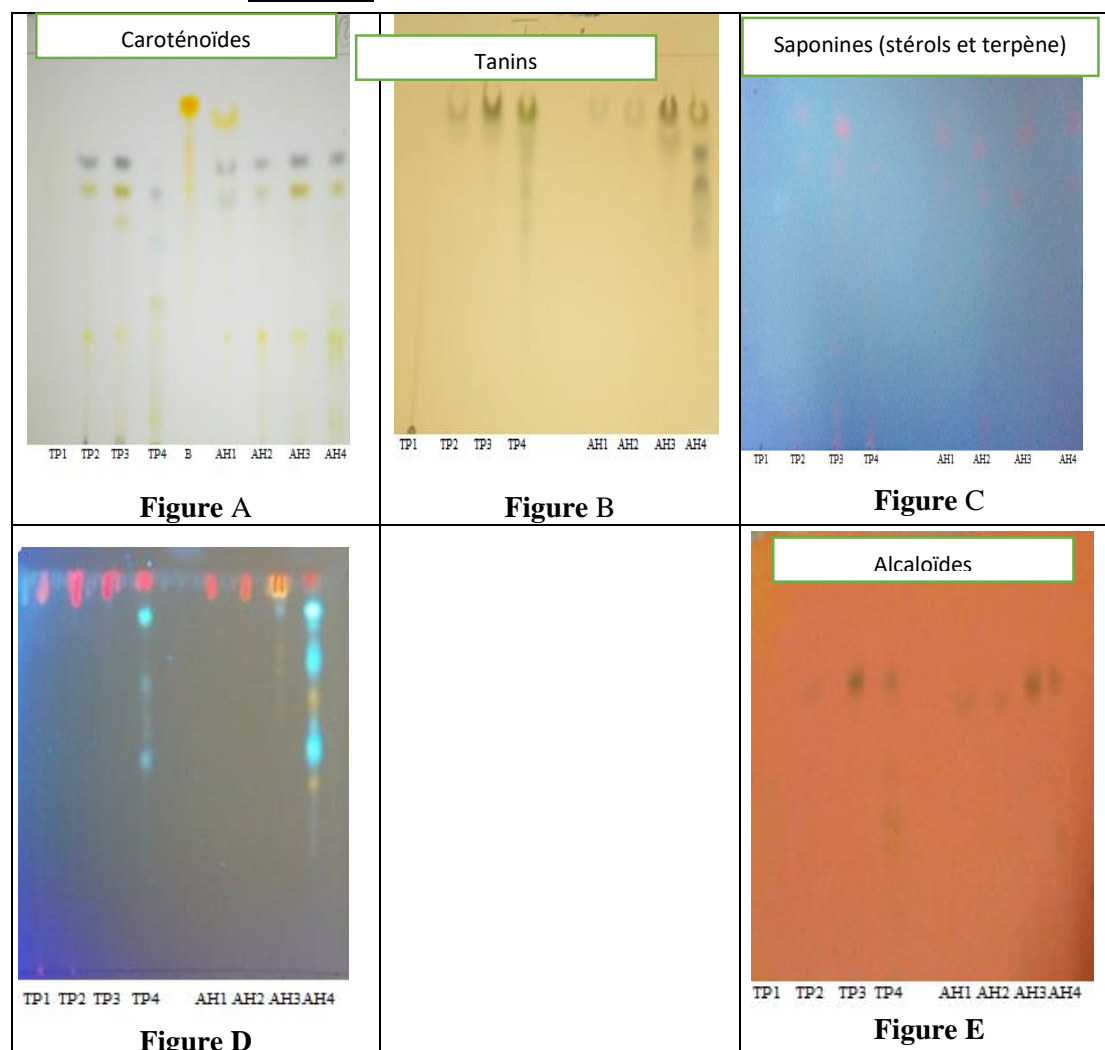


Figure A : CCM des caroténoïdes ; **Figure B** : CCM des tanins ; **Figure C** : CCM des saponines ; **Figure D** : CCM des flavonoïdes ; **Figure E** : CCM des alcaloïdes

3.3 Teneur en polyphénols et en flavonoïdes totaux

3.3.1 Teneur en polyphénols totaux (TPT)

La teneur en polyphénols de l'ensemble des extraits en comprise entre 4,45 et 155,79 mg EAG/ g de chaque extrait (**tableau 4**). Les résultats obtenus montrent la richesse en polyphénols dans l'extrait méthanolique des feuilles de *Acanthospermum hispidum* (AH4) dont la teneur est 155,79 mg EAG/ g d'extrait suivi de l'extrait à l'acétate d'éthyle des feuilles de *Acanthospermum hispidum* (AH3) avec une teneur de 56,37 mg EAG/ g d'extrait. Pour les autres extraits, le contenu en polyphénols est compris entre 4,45 et 31,56 mg EAG/ g d'extrait. Les extraits TP4, TP3, et AH2 ont des teneurs de l'ordre de 29 mg EAG/ g d'extrait. L'extrait à l'hexane de *Tridax procumbens* est le moins riche en composés phénoliques avec une teneur 4,45 mg EAG/ g d'extrait.

Tableau 4 : Teneur en polyphénols totaux des extraits de *Acanthospermum hispidum* et de *Tridax procumbens*

<i>Plantes</i>	<i>Extraits</i>	<i>Teneur en mg EAG/ g d'extrait</i>
Acanthospermum hispidum	Hexane	22,38 ± 1,15
	Dichlorométhane	28,44 ± 3,84
	Acétate d'éthyle	56,37 ± 2,50
	Méthanol	155,79 ± 9,25
Tridax procumbens	Hexane	4,45 ± 1,42
	Dichlorométhane	7,2 ± 0,94
	Acétate d'éthyle	31,56 ± 2,21
	Méthanol	29,06 ± 0,93

3.3.1 Teneur en flavonoïdes totaux (TFT)

Les teneurs en flavonoïdes exprimées en milligrammes équivalent quercétine par gramme d'extrait sont comprises entre 0,75 et 33,05 mg EQ/ g et entre 5,07 et 36,27 mg EQ/ g respectivement pour les extraits des feuilles de *Tridax procumbens* et *Acanthospermum hispidum* (**tableau 5**). L'extrait au dichlorométhane de *Acanthospermum hispidum* enregistre la plus grande teneur avec une valeur de 36,27 mg EQ/ g suivis des extraits à l'acétate d'éthyle (**tableau 5**).

Tableau 5 : Teneur en flavonoïdes totaux des extraits de *Acanthospermum hispidum* et de *Tridax procumbens*

<i>Plantes</i>	<i>Extraits</i>	<i>Teneur en mg EQ/ g d'extrait</i>
Acanthospermum hispidum	Hexane	5,07 ± 0,31
	Dichlorométhane	36,27 ± 1,97
	Acétate d'éthyle	21,41 ± 1,25
	Méthanol	5,09 ± 0,31
Tridax procumbens	Hexane	0,75 ± 0,28
	Dichlorométhane	13,05 ± 0,83
	Acétate d'éthyle	33,05 ± 0,91
	Méthanol	18,94 ± 0,50

3.4. Teneur en antioxydants totaux

Les teneurs en antioxydants totaux des différents extraits sont regroupées dans le tableau 6. Les teneurs varient entre 1,08 et 271,32 mg ET / par g d'extrait. Les extraits AH4 et AH3 possèdent les meilleures teneurs respectivement de 271,32 et 137,98 mg ET / g d'extrait. L'extrait méthanolique de *Tridax procumbens* enregistre également une teneur en antioxydant non moins importante de 129,06 mg ET/ g

d'extract. Les extraits au dichlorométhane et à l'hexane sont faibles en antioxydants dont le plus faible est l'extract TP1 avec une teneur de 1,08 mg ET / g d'extract.

Tableau 6 : Teneur en antioxydants des extraits de *Acanthospermum hispidum* et de *Tridax procumbens*

Plantes	Extraits	Teneur en mg ET/ g d'extract
<i>Acanthospermum hispidum</i>	Hexane	5,91 ± 0,98
	Dichlorométhane	4,58 ± 0,28
	Acétate d'éthyle	137,98 ± 5,4
	Méthanol	271,32 ± 7,92
<i>Tridax procumbens</i>	Hexane	1,08 ± 0,11
	Dichlorométhane	8,21 ± 1,94
	Acétate d'éthyle	13,23 ± 0,54
	Méthanol	129,06 ± 6,34

3.4. Taux d'inhibition

Les taux d'inhibition des extraits ont été également évalués et les résultats figurent sur la **figure 1**. Ces taux d'inhibition peuvent être associés aux différents constituants que contiennent les extraits. Au regard des différentes valeurs, les extraits AH4, TP4, AH3, et TP1 sont les plus actifs respectivement avec des taux d'inhibition supérieurs à 50%. L'extract AH1 enregistre ici la plus faible valeur de 44,59%. Le fort taux d'inhibition des fractions hexaniques et au dichlorométhane des fractions pourrait s'expliquer par la présence de terpènes et de composés lipophiles comme les lipides ayant une affinité pour ces solvants apolaires. Ceci est en accord avec les travaux de Lompo et al. ainsi que ceux de Osman et al., 2009.

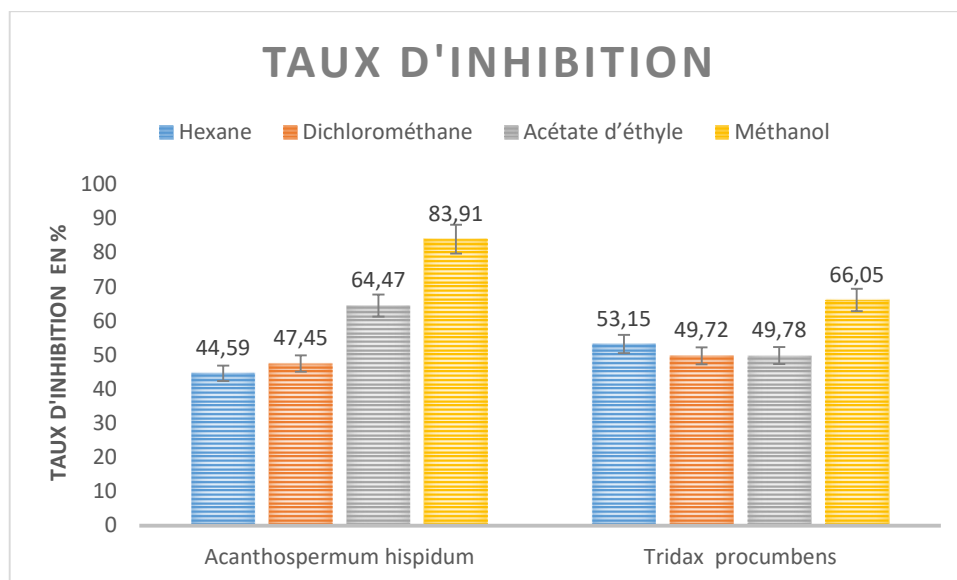


Figure 1 : taux d'inhibition des extraits

4. Conclusion

Le présent travail a porté sur l'étude phytochimique et évaluation des teneurs en polyphénols, en flavonoïdes et en antioxydants totaux de *A. hispidum* et *T. procumbens* acclimatées au Burkina Faso. Ainsi au terme de l'étude, nous retiendrons que les matériels végétaux utilisés contiennent les métabolites secondaires tels que des flavonoïdes, des tanins, des saponines, les alcaloïdes ainsi que des caroténoïdes. Les polyphénols sont majoritaires dans l'extract méthanolique de *A. hispidum* et les flavonoïdes sont plus abondants dans les extraits à l'acétate d'éthyle.

Les extraits au méthanol et à l'acétate d'éthyle des deux plantes sont également les plus riches en antioxydants totaux d'où leurs meilleurs taux d'inhibition.

Références

- 1- WHO. Traditional medicine fact sheet. Geneva. WHO, (2003).
- 2- Ribereau-Gayon, P. *Les composés phénoliques des végétaux* (1968). Ed. Dunod, Paris. 254 Pages.
- 3- Rice-Evans, C. A.; Miller, N. J.; Paganga, G (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology & Medicine* 20: 933-956.
- 4- Omulokoli E, Khan B, Chhabra SC (1997) Antiplasmodial activity of four Kenyan medicinal plants. *J Ethnopharmacol* 56 : 133–137
- 5- Rasoanaivo P, Ratsimamanga-Urverg S, Ramanitrasimbola D, Rafatro H, Rakoto-Ratsimamanga A (1999) Criblage d'extraits de plantes de Madagascar pour recherche d'activité antipaludique et d'effet potentialisateur de la chloroquine. *J Ethnopharmacol* 64 :117–126
- 6- T. Michel, E. Destandau, C. Elfakir (2011). On-line hyphenation of Centrifugal Partition Chromatography (CPC) and High Pressure Liquid Chromatography (CLHP) for the fractionation of flavonoids from *Hippophaë rhamnoides* L. berries. *Journal of Chromatography A*, 1218 6173-6178.
- 7- Ladigina E.Y., Safronich L.N., Otriacheva V.E., Balandina I.A., Grinkevich N.I., Sorokina A.A., Glizin V.I., Molodjnikova L.M., Mitin Y.S., Samilina I.A. & Ermakova V.A. (1983). Analyse chimique des plantes médicinales, édition Moskva vischaya chkola: 172 pp
- 8- Lhuilier A. (2007). Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia* Hook.f ex Oliver, *Agauria polyphylla* Baker (*Ericaceae*), *Tambourissa trichophylla* Baker (*Monimiaceae*) et *Embelia concinna* Baker (*Myrsinaceae*). Thèse de Faculté des Sciences Pharmaceutiques - Université Paul Sabatier - Toulouse III, 214 pp.
- 9- Wagner, H. and Bladt, S (1996). Plant drug analysis, a thin layer chromatography. atlas; 2nd Ed. (Springer Ed.), 286 pages
- 10- Bruneton, J. Pharmacognosie, Phytochimie, Plante médicinales. Lavoisier Technique & Documentation, 3^{ème} éd., Paris, pp. 1120.
- 11- Ribereau-Gayon, P (1968). *Les composés phénoliques des végétaux*. Ed. Dunod, Paris. 254 Pages.
- 12- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152–178.
- 13- Singleton, V. L.; Orthofer, R.; Lamuela-Raventos, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent (1999). *Methods Enzymol.* 299, 152-178.
- 14- Zhishen, J.; Mengcheng, T.; Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem.*, 64, 555.
- 15- Benkiki N. (2006). Etude phytochimique des plantes médicinales algériennes : *Ruta montana*, *Matricaria pubescens* et *Hypericum perforatum*. Thèse de Doctorat d'état, Université El-Hadj Lakhdar Batna (Algérie) 198 pp.
- 16- Lagnika L. (2005). Etude Phytochimique et Activité Antipaludique de Substances Naturelles issues de Plantes Béninoises. Thèse de Doctorat, Université Louis Pasteur de Strasbourg/Université d'Abomey-Calavi, Bénin, 268 pp.
- 17- Konan K.M. (2010). Etude chimique et évaluation de l'activité antioxydante de quatre plantes médicinales de Côte d'Ivoire. Thèse unique de doctorat, Université Abobo-Adjamé (Côte d'Ivoire) 112 pp.
- 18- Dekker M. (2002). Coumarins: analysis by TLC. *Encyclopedia of chromatography*: pp.1-3.
- 19- Woisky, R. G., & Salatino, A. (1998). Analysis of propolis : some parameters and procedures for chemical quality control. *Journal of Apiculture Research*, 37, 99–105.
- 20- Bruno P., Jérôme D., Sébastien B., Hervé B., Christophe R. (2010). La résistance aux antipaludiques. N° 422/ 51
- 21- Brand-Williams, W., Cuvelier M. E., Berset C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm Wiss-Technol.*, 28, 25
- 22- Osman H, Afidah AR, Norhafizah MI, Nornaemah MB (2009). Antioxidant Activity and Phenolic Content of *Paederia foetida* and *Syzygium aqueum*. *Molecules* 14:970-978.
- 23- Lompo Marius, Traoré Rakiatou, Ouédraogo Noufou, Kini Félix, Tibiri André, Duez Pierre3 and Guissou I. Pierre (2016). *In vitro* antioxidant activity and phenolic contents of different fractions of ethanolic extract from *Khaya senegalensis* A. Juss. (Meliaceae) stem barks. Vol. 10(23), pp. 501-507

Evaluation de l'effet antidiabétique des extraits aqueux de quatre plantes de la pharmacopée ivoirienne sur des souris

N'da Kessé Philippe^{1*}, Koffi N'dri Emmanuel², Gbegbin Emile³, Adima Amissa Augustin¹

¹Laboratoire des Procédés Industriels, de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles, Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny (Côte d'Ivoire), BP 1093, Yamoussoukro, Côte d'Ivoire.

²Ecole Normale Supérieure (ENS), Département des Sciences et Technologie, 08 BP 10 Abidjan 08, Côte d'Ivoire.

³Laboratoire de Nutrition et Pharmacologie, Unité de Formation et de Recherche Biosciences, Université Félix Houphouët-Boigny d'Abidjan (Côte d'Ivoire), 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.

RESUME :

Le diabète est l'un des principaux problèmes de santé dans le monde. La prise en charge onéreuse de cette pathologie amène la population à utiliser les plantes médicinales pour leur besoin en santé. La présente étude a pour objet d'évaluer l'effet antidiabétique des extraits aqueux de quatre plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne à savoir *Alchornea cordifolia*, *Ocimum gratissimum*, *Tetrapleura tetraptera* et *Vernonia colorata*. Pour ce faire, des doses de 100, 300 et 600 mg/kg de PC des différents extraits ont été administrées (per/os) à différents lots de souris de l'espèce *Mus musculus*, de souche Swiss. Les résultats ont révélé que les extraits aqueux de *Alchornea cordifolia*, *Ocimum gratissimum*, *Tetrapleura tetraptera* et *Vernonia colorata* induisent une hypoglycémie dose dépendante chez les souris au bout de 120 minutes. L'évaluation des effets anti hyperglycémiant au bout de 180 minutes des différents extraits de plante a montré une diminution significative de la glycémie chez les souris pré-traitées au glucose anhydre administré (per/os) à la dose de 4mg/kg de PC. De ce fait, les différents extraits aqueux de ses plantes possèdent une activité hypoglycémiant et anti-hyperglycémiant justifiant ainsi leur utilisation en pharmacopée traditionnelle.

Mots clés : Diabète, phytothérapie, plantes médicinales

SUMMARY:

Diabetes is one of the main health problems in the world. The expensive management of this pathology leads the population to use medicinal plants for their health needs. The purpose of this study is to evaluate the antidiabetic effect of aqueous extracts of four medicinal plants of the Ivorian pharmacopoeia namely *Alchornea cordifolia*, *Ocimum gratissimum*, *Tetrapleura tetraptera* and *Vernonia colorata*. To do this, doses of 100, 300 and 600 mg/kg of CP of the different extracts were administered (per/os) to different batches of mice of the species *Mus musculus*, of Swiss strain. The results revealed that the aqueous extracts of *Alchornea cordifolia*, *Ocimum gratissimum*, *Tetrapleura tetraptera* and *Vernonia colorata* induced dose-dependent hypoglycemia in mice after 120 minutes. Evaluation of the anti-hyperglycemic effects after 180 minutes of the different plant extracts showed a significant decrease in blood glucose in mice pre-treated with anhydrous glucose administered (per/os) at a dose of 4mg/kg of CP. As a result, the different aqueous extracts of its plants have a hypoglycemic and anti-hyperglycemic activity thus justifying their use in traditional pharmacopoeia.

Keywords: Diabetes, phytotherapy, medicinal plants

1- INTRODUCTION

Le diabète de type II est une affection chronique due à une insuffisance de la production d'insuline par le pancréas ou une insulino-résistance. Cette insuffisance provoque une augmentation de la glycémie qui conduit avec le temps à des complications telles les insuffisances rénales, les cécités, les amputations des membres inférieurs, les accidents cardiaques et les accidents vasculaires cérébraux [1]. Le nombre de personnes diabétiques dans le monde est passé de 177 millions en 2000 à 415 millions en 2015 et si l'on y garde atteindra 642 millions en 2040 [2 ; 3]. La Côte d'Ivoire n'échappe pas à cette épidémie. La prévalence du diabète était de 5 % en 2016 [1]. Malgré le développement de plusieurs médicaments antidiabétiques dans le monde, la régulation de la glycémie n'est pas tout à fait satisfaisante. La médecine traditionnelle basée sur l'utilisation des plantes médicinales est en pleine essor. Selon l'OMS, près de 80% des populations des pays en voie de développement ont recours à la médecine traditionnelle pour le traitement de nombreuses maladies [4 ; 5]. C'est dans cette veine que s'inscrit cette étude qui a pour objet d'évaluer l'effet antidiabétique des extraits aqueux de quatre plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne à savoir *Alchornea cordifolia*, *Ocimum gratissimum*, *Tetrapleura tetraptera* et *Vernonia colorata*.

2- Matériel et méthodes

2-1 Matériel

2-1-1 Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des feuilles d'*Alchornea cordifolia*, de *Vernonia colorata*, de *Ocimum gratissimum* et des fruits de *Tetrapleura tetraptera*. Toutes ces feuilles et fruits ont été ensuite acheminés au Laboratoire des Procédés Industriels, de Synthèse et de l'Environnement (LAPISEN) de l'INP-HB de Yamoussoukro. Des extraits secs ont été obtenus par décoction des poudres après séchage et pulvérisation.

2-1-2 Matériel biologique

Des souris de l'espèce *Mus musculus*, de souche Swiss ont été utilisées pour la réalisation des différentes expérimentations *in vivo*. La mesure de la glycémie a été réalisée avec un glucomètre à bandelettes réactives (On Call® Extra, San Diego, USA). Des sondes œsophagiennes ont permis l'administration orale des différentes substances d'essai. Le glucose anhydre a permis d'induire une hyperglycémie temporaire. Le glibenclamide (agent hypoglycémiant) a été utilisé comme molécule de référence.

2-2 Méthodes

2-2-1 Activité hypoglycémiant chez les animaux normoglycémiques

Les animaux avaient été préalablement mis à jeun 14 heures sans privation d'eau. La glycémie basale a ensuite été mesurée avant l'administration des produits correspondants à chaque lot. Le contrôle de la glycémie s'est effectué à 30, 60 et 120 minutes. Les pourcentages de variation du taux de glucose sanguin ont été calculés aux différents temps de mesure de la glycémie.

2-2-2 Activités anti-hyperglycémiantes chez les animaux soumis au test de tolérance au glucose

Après avoir été mise à jeun 14 heures sans restriction d'eau, la glycémie basale a ensuite été mesurée avant l'administration des produits correspondants à chaque lot. Les animaux recevaient pratiquement au même moment (environ 1 minute d'intervalle) le glucose anhydre (4mg/Kg de PC de glucose) puis les différentes substances tests. Le contrôle de la glycémie s'est fait toutes les 30 minutes pendant 180 min. Les pourcentages de variation du taux de glucose sanguin ont été calculés aux différents temps de mesure de la glycémie.

Analyses statistiques

Les différentes valeurs obtenues ont été exprimées sous la forme de moyenne suivie de l'erreur standard sur la moyenne ($M \pm \text{ESM}$). La signification des différences observées entre les différents lots tests est appréciée par l'analyse des variances (ANOVA) du test de comparaison multiple de Turkey-Kramer et le test T-students via le logiciel GraphPad Prism 5 (San Diogo California, USA).

3- Résultats et discussion

3-1 Résultats

3-1-1 Effet des différents extraits sur la glycémie basale des souris normoglycémiques

3-1-1-1 Effet d'*Alchornea cordifolia* sur la glycémie basale des souris normoglycémiques

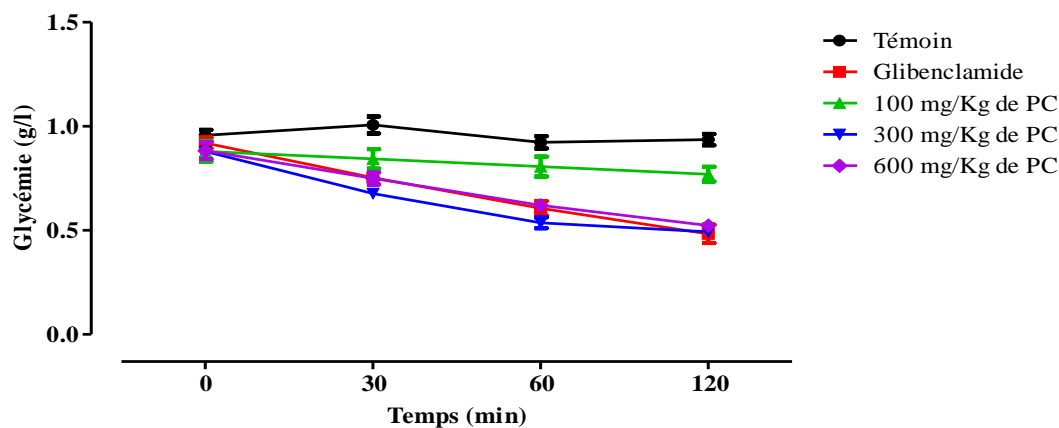


Figure 1. Effet de l'extrait d'*Alchornea cordifolia* et du glibenclamide sur de la glycémie basale des souris normoglycémiques

La dose de 100 mg/kg de PC a induit une diminution peu significative ($P < 0,05$) de 12,50 % de la glycémie à la 120^{ème} minute. Cependant, les doses 300 et 600 mg/kg de PC réduisaient peu significativement ($P < 0,05$) et significativement ($P < 0,01$) la glycémie respectivement 30 min et 60 min suivant leurs administrations aux animaux. Des taux de réduction de 43,94 % ($P < 0,01$) et de 40,75 % ($P < 0,01$) de la glycémie ont été observés au bout des 120 min respectivement pour les doses 300 et 600 mg/kg de PC.

3-1-1-2 Effet de de *Ocimum gratissimum* sur la glycémie basale des souris normoglycémiques

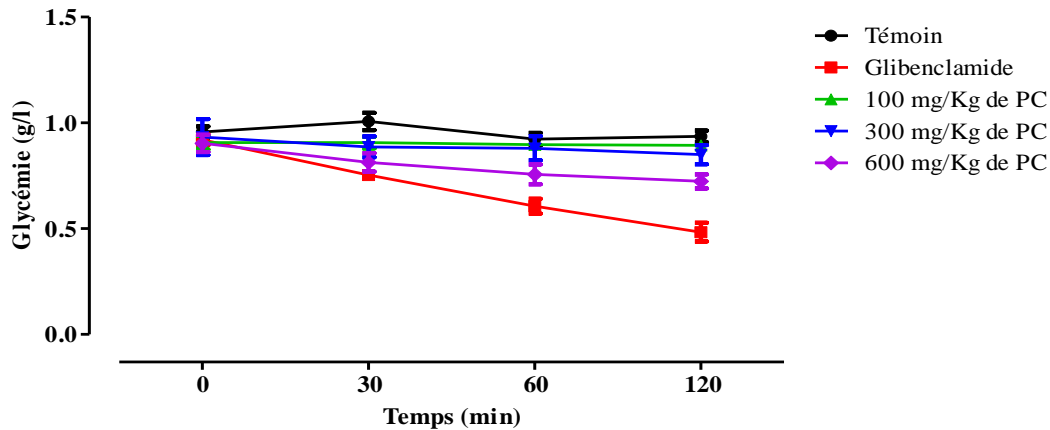


Figure 2. Effet de l'extrait d'*Ocimum gratissimum* et du glibenclamide sur de la glycémie basale des souris normoglycémiques

Le traitement des animaux aux doses de 100 et 300 mg/kg de PC de l'extrait B n'a eu statistiquement aucun effet sur la glycémie des souris. Par contre, la dose 600 mg/kg de PC a induit une baisse peu significative ($P < 0,05$) de la glycémie de 16,24 % et de 19,93 % à la 60^{ème} et 120^{ème} de l'expérience

3-1-1-3 Effet de de *Tetrapleura tetraptera* sur la glycémie basale des souris normoglycémiques

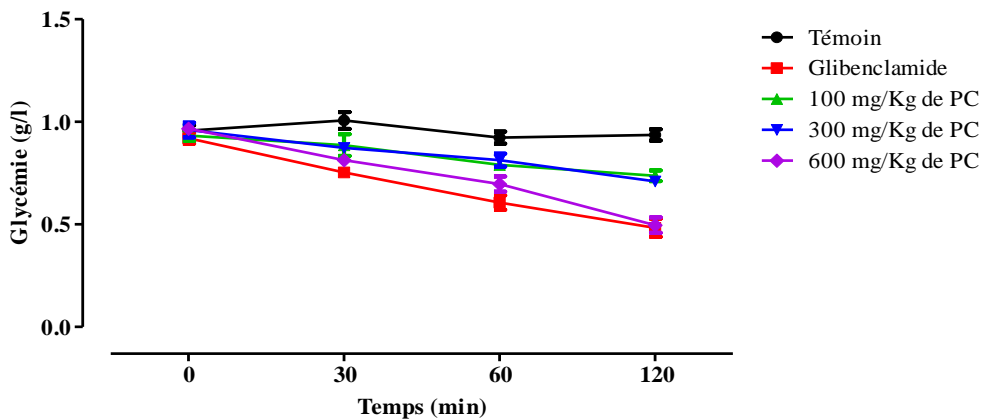


Figure 3. Effet de l'extrait de *Tetrapleura tetraptera* et du glibenclamide sur de la glycémie basale des souris normoglycémiques

L'extrait C, aux doses de 100 et 300 mg/kg de PC, a induit une diminution peu significative ($P < 0,05$) de la glycémie des animaux à partir de la 60^{ème} min suivant leur administration. La dose de 100 mg/kg de PC induisait une baisse de la glycémie de 15,36 % et de 21,07 % à 60 et 120 min respectivement tandis que celle de 300 mg/kg de PC la réduisait de 15,28 % et de 26,04 % à ces mêmes temps. Cependant, la dose 600 mg/kg de PC induisait une diminution peu significative ($P < 0,05$) de 15,86 % et de 27,93 % à 30 et à 60 min et très significative de 48,62 % à 120 min

3-1-1-4 Effet de *Vernonia colorata* sur la glycémie basale des souris normoglycémiques

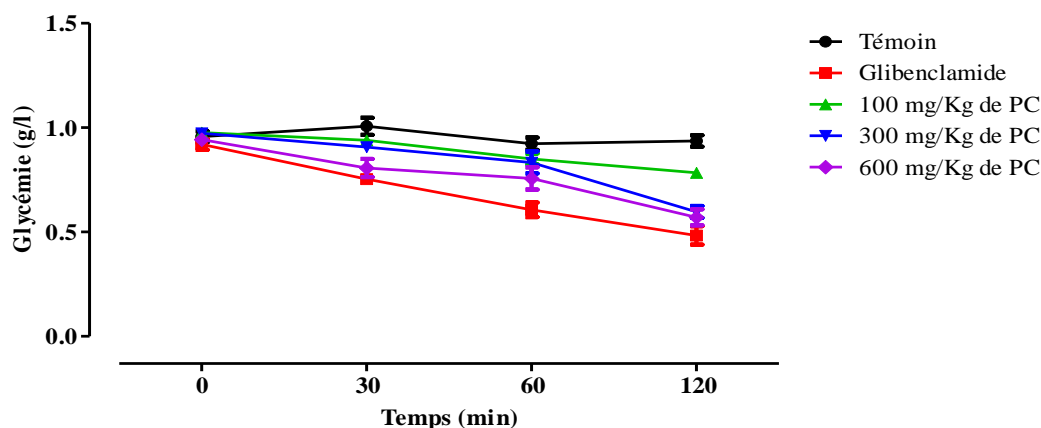


Figure 4. Effet de l'extrait de *Vernonia colorata* et du glibenclamide sur de la glycémie basale des souris normoglycémiques

L'effet de l'extrait D sur la glycémie devenait plus important à mesure que la dose croissait. En effet, la dose de 100 mg/kg de PC induisait une baisse peu significative ($P < 0,05$) de la glycémie de 19,80 % qu'à la fin de l'expérience tandis que celle de 300 mg/kg de PC la diminuait de 14,38 % ($P < 0,05$) et 38,70 ($P < 0,01$) à 60 et 120 min respectivement. La dose de 600 mg/kg de PC réduisait la glycémie de 14,49 ($P < 0,05$), 19,79 ($P < 0,05$) et 39,58 % ($P < 0,01$) à 30, 60 et 120 min respectivement.

3-1-2- Effet des différents extraits sur la glycémie des souris soumises au test de tolérance au glucose

3-1-2-1 Effet d'*Alchornea cordifolia* sur la glycémie des souris soumises au test de tolérance au glucose

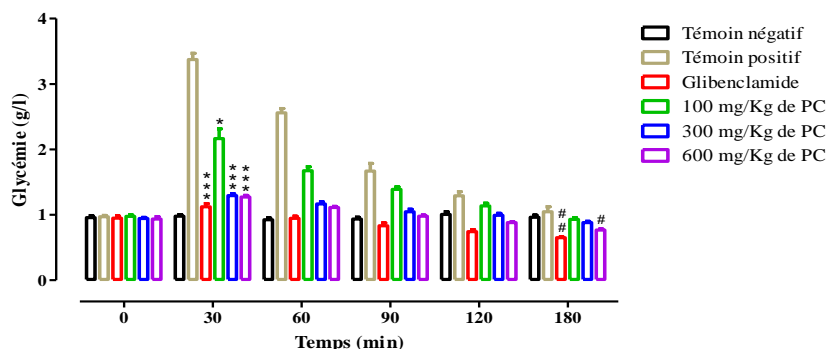


Figure 5. Effet de l'extrait d'*Alchornea cordifolia* et du glibenclamide sur la glycémie des souris soumises au test de tolérance au glucose

Les taux d'induction de l'hyperglycémie dans les différents lots traités avec l'extrait d'*Alchornea cordifolia* ont été significatifs par rapport au témoin positif. En effet, les doses 100, 300 et 600 mg/kg de PC d'extrait A enregistraient des taux de 121,84 % ($P < 0,05$), 37,10 % ($P < 0,001$) et 35,94 % ($P < 0,001$) respectivement contre 247,77 % pour le témoin positif.

3-1-2-2 Effet d'*Ocimum gratissimum* sur la glycémie des souris soumises au test de tolérance au glucose

Un taux d'induction de l'hyperglycémie peu significative de 134,65 % ($P < 0,05$) a été observé dans le lot traité avec 600 mg/kg de PC d'extrait d'*Ocimum gratissimum* comparativement au témoin positif. Les doses 100 et 300 mg/kg de PC d'extrait B n'ont statistiquement pas influencé l'hyperglycémie induite.

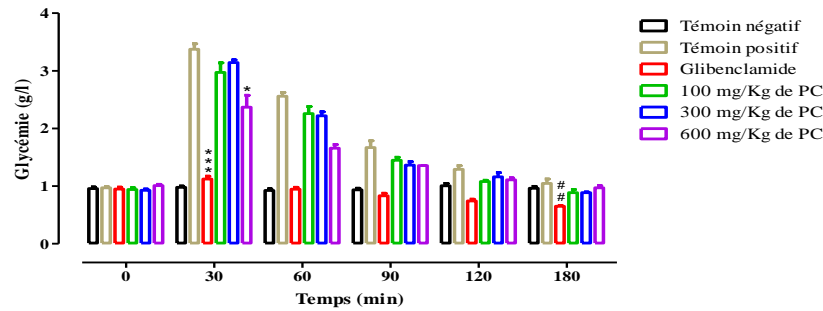


Figure 6. Effet de l'extrait d'*Ocimum gratissimum* et du glibenclamide sur la glycémie des souris soumises au test de tolérance au glucose

3-1-2-3 Effet de *Tetrapleura tetraptera* sur la glycémie des souris soumis au test de tolérance au glucose

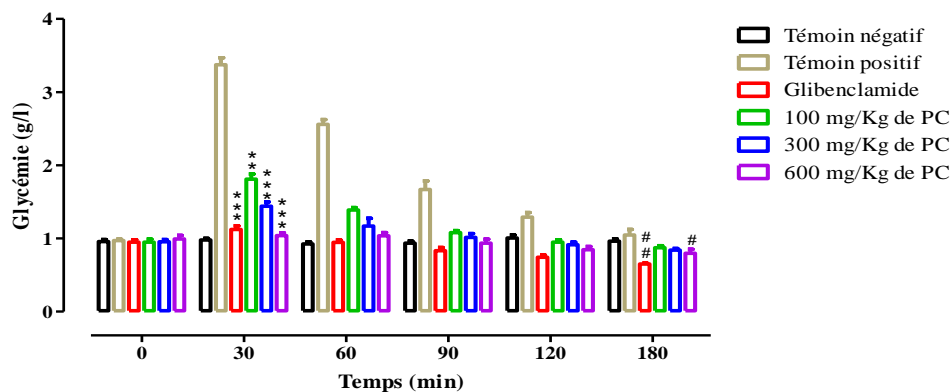


Figure 7. Effet de l'extrait de *Tetrapleura tetraptera* et du glibenclamide sur la glycémie des souris soumises au test de tolérance au glucose

Les doses de 100 et 300 mg/kg de PC de l'extrait de *Tetrapleura tetraptera* ont présenté respectivement des taux significativement faibles d'induction de l'hyperglycémie de 90,53 % ($P < 0,01$), 51,05 % ($P < 0,001$) comparativement au témoin positif (247,77 %). Par contre la dose de 600 mg/kg de PC a présenté une induction significative de l'hyperglycémie dès la 30^{ème} minute d'administration. Il a été aussi observé en fin d'expérience une diminution peu significative ($P < 0,05$) de la glycémie de 19,80% par rapport à la glycémie initiale dans le lot traité avec 600 mg/kg de PC d'extrait *Tetrapleura tetraptera*

3-1-2-4 Effet de *Vernonia colorata* sur la glycémie des souris soumis au test de tolérance au glucose

Les taux d'induction de l'hyperglycémie dans les différents lots traités avec l'extrait D ont été significativement faibles par rapport au témoin positif. En effet, les doses 100, 300 et 600 mg/kg de PC d'extrait D enregistraient des taux de 176,21 % ($P < 0,05$), 51,96 % ($P < 0,001$) et 25,87 % ($P < 0,001$) respectivement contre 247,77 % pour le témoin positif.

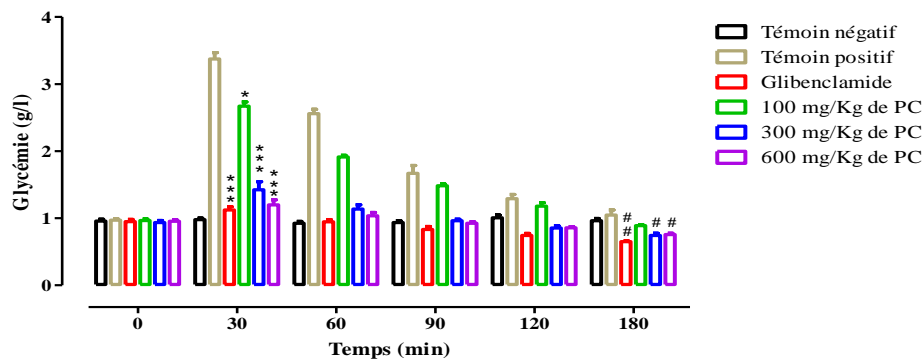


Figure 8. Effet de l'extrait de *Vernonia colorata* et du glibenclamide sur la glycémie des souris soumises au test de tolérance au glucose

3-2 Discussion

Les résultats indiquent que nos extraits ont tous une activité hypoglycémiant et anti-hyperglycémiant. Aux doses de 600 mg/kg de PC, les extraits de *Ocimum gratissimum*, *Tertapleura tetraptera* et de *vernonia colorata* réduisent très significativement la glycémie. A ces mêmes doses, ils présentent des taux d'induction également significative de l'hyperglycémie. Ces effets sont aussi observés avec l'extrait d'*Alchornea cordifolia* à la dose de 300 mg/kg de PC. Ce qui justifie leur utilisation en milieu rural comme l'a révélé **Tra Bi et al**, [6] dans ses travaux sur les plantes utilisées pour le traitement du diabète et de la tension artérielle en Côte d'Ivoire. Ses résultats sont en conformité avec les travaux réalisés par **Gata et al** [7] sur les feuilles de *vernonia colorata*, de même que ceux réalisés par **Monteomo G.F** [8] et al et **Fofié N.**[9] et al sur les feuilles de *Ocimum gratissimum*. L'activité anti diabétique des feuilles d' *Alchornea cordifolia* a été prouvée par les travaux de **Ikechukwu et al.**[10]

4- Conclusion

Cette étude nous a permis de montrer que l'extrait aqueux d'*Alchornea cordifolia* possède à la dose de 300mg/kg de PC. Cependant ceux d'*Ocimum gratissimum*, *Tertapleura tetraptera* et de *vernonia colorata* exercent une activité hypoglycémiant et anti-hyperglycémiant à la dose de 600 mg/kg de PC. Donc l'utilisation de ces plantes pourrait participer à la régulation de la glycémie des malades diabétiques.

5- Références bibliographiques

- [1] Organisation Mondiale de la santé (2016). Rapport mondial sur le diabète.
- [2] Fédération Internationale du Diabète- IDF, 2000
- [3] Fédération Internationale du Diabète- IDF, 2015
- [4] Organisation Mondiale de la santé (2002). Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle. Genève, WHO/EDM/TRM. 1 : 1- 63
- [5] Newman DJ, Cragg GM et Snader KM. 2000. The influence of natural products upon drug discovery. Natural Product Reports 17 : 175- 285.
- [6] Fézan H. Tra Bi, Guy M. Irié, Kohué C.C.N'Gaman, Clejesson H.B. Mohou, 2008. Etude de quelques plantes utilisées dans le traitement de l'hypertension artérielle et du diabète : deux maladies émergentes en Côte d'Ivoire. Sciences et Nature Vol 15 N1 39-40
- [7] Gata Yoro Sy, FS Barbosa, A. Wele, PM Gueye, CD Gueye, A Cissé, A.M. Dieye, E. Bassene, B. Faye, 2008. Activité anti-hyperglycémiant de la fraction F2 de l'extrait total acétonique de feuille de *vernonia colorata* (Compositae), Pharmacopée et Médecine Traditionnelle Africaine ; 15 :6-10
- [8] Monteomo Gnate François, Tehoua L., Ouattara H., Yapi A., 2014. Comparative of the antihyperglycemic activity of sclerocarya birea, Khaya senegalensis, Heliotropium indicum and Ocimum gratissimum to rats wistar, American Journal of Bioscience 2(2) ;60-63.
- [9] Fofié NBY, Yao K., Traoré-Koné K., Sanogo R., Koné-Bamba D., 2017. Evaluation des activités antioxydante et anti-hyperglycémiant des feuilles de *Ocimum gratissimum* (Lamiaceae), REBPASRES, n02, Mai-Aout.
- [10] Eliakim-Ikechukwu C.F., Obi A.I., 2009, Histological changes in the pancreas following administration of ethanolic extract of *Alchornea cordifolia* leaf in alloxan induced diabetic wistar rats. Niger.J. Physiol. Sci 24.

Evaluation des propriétés anticancéreuses de *Acacia macrostachya* (Mimosaceae)

Hamidou Têda Ganamé^{1,2}, Yssouf Karanga^{1,3}, Issa Tapsoba¹, Mario Dicato², Marc F. Diederich⁴, Claudia Cerella² and Richard Wantinga Sawadogo⁵

¹ Laboratoire de Chimie Analytique, Environnementale et Bio-Organique (LCAEBiO),
Université Joseph KI-ZERBO, Ouagadougou 03 BP 7021, Burkina Faso ; hamidganam@gmail.com ; issa.tapsoba@gmail.com

² Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire du Cancer (LBMCC), Hôpital Kirchberg,
L-2540 Luxembourg; claudia.cerella@lbmcc.lu; dicato.mario@chl.lu

³ Laboratoire de Chimie des Matériaux et de l'Environnement (LCME), Université Norbert ZONGO, Avce Maurice Yameogo, Koudougou BP 376,
Burkina Faso; yssoufkaranga@gmail.com

⁴ College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 08826, Korea; marcdiederich@snu.ac.kr

⁵ Institut de Recherche en Sciences de la Santé (IRSS/CNRST), Ouagadougou 03 BP 7192, Burkina Faso ; richardsawadogo@hotmail.com

Résumé

Acacia macrostachya (Mimosaceae) est utilisé en médecine traditionnelle burkinabè pour le traitement de l'inflammation et du cancer. Le but de cette étude était d'évaluer le potentiel anticancéreux de cette plante. En effet, les propriétés anticancéreuses des extraits des écorces de racines (B1 : dichlorométhane et B2 : méthanol) et de tiges (B3 : dichlorométhane et B4 : méthanol) ont été évaluées sur les cellules cancéreuses de la leucémie chronique (K562) et de la leucémie aiguë (U937) en utilisant les méthodes telles que le bleu de trypan, le Hoechst et le MitoTrackerRed. B1 et B2 ont montré un potentiel anticancéreux remarquable et sélectif sur les deux modèles de cellules cancéreuses ; B1 ayant montré les meilleures activités antiproliférative (IC₅₀ : 2,7 ± 0,1 µg/mL et 6,0 ± 0,9 µg/mL sur les cellules U937 et K562 respectivement) et apoptotique (IC₅₀ : 5,4 ± 0,2 µg/mL et 8,1 ± 0,7 µg/mL sur les cellules U937 et K562 respectivement). B4 a sélectivement affecté les cellules U937. Les cellules saines n'ont pas été ou à peine affectées dans la gamme des concentrations cytotoxiques aux cellules cancéreuses. Les résultats de cette étude soulignent l'intérêt des extraits de *A. macrostachya* pour l'isolement des molécules anticancéreuses.

Mots clés : *Acacia macrostachya* ; cytotoxicité ; cancer ; leucémie

Evaluation of the anticancer properties of *Acacia macrostachya* (Mimosaceae)

Abstract

Acacia macrostachya (Mimosaceae) is used in traditional Burkinabe medicine for the treatment of inflammation and cancer. The purpose of this study was to evaluate the anticancer potential of this plant. Indeed, the anticancer properties of extracts from root bark (B1: dichloromethane and B2: methanol) and stems (B3: dichloromethane and B4: methanol) were evaluated on cancer cells of chronic leukemia (K562) and acute leukemia (U937) using methods such as trypan blue, Hoechst and Mito Tracker Red. B1 and B2 showed remarkable and selective anticancer potential in both cancer cell models; B1 showing the best antiproliferative (IC₅₀: 2.7 ± 0.1 µg/mL and 6.0 ± 0.9 µg/mL on U937 and K562 cells respectively) and apoptotic (IC₅₀: 5.4 ± 0.2 µg/mL and 8.1 ± 0.7 µg/mL on U937 and K562 cells respectively). B4 selectively affected U937 cells. Healthy cells have not been or barely affected in the range of cytotoxic concentrations to cancer cells. The results of this study highlight the interest of *A. macrostachya* extracts for the isolation of anticancer molecules.

Keywords: *Acacia macrostachya*; cytotoxicity; cancer; leukemia

Introduction

Le cancer est un problème de santé publique majeur dans le monde entier. Il est la cause de milliers de décès dans le monde en général, et particulièrement dans les pays à faibles revenus ou à revenus intermédiaires. Plus de 70 % des décès par cancer surviennent dans les pays à faible revenu ou intermédiaire tous les ans [1]. En effet, en 2015, le cancer a causé 8,8 millions de morts dans le monde [1]. Le nombre de nouveaux cas de cancer était estimé à 18,1 millions en 2018 contre 14 millions en 2012 avec 9,6 millions de décès dans le monde en 2018 [2]. Par ces données, il ressort que le cancer constitue la deuxième cause de mortalité après les maladies cardio-vasculaires [1]. Selon les projections de l'OMS réalisées en 2008, les décès par cancer devraient continuer d'augmenter dans le monde et atteindraient 26,4 millions en 2030. Les formes les plus fréquentes sont les cancers du cerveau, les tumeurs solides (neuroblastome), la tumeur de Wilms, la leucémie et les lymphomes [3, 4]. A ce jour, les méthodes de prise en charge des patients sont la chimiothérapie, la radiothérapie et la chirurgie [5]. Cependant ces méthodes ne sont pas accessibles à tous, surtout dans les pays en développement compte tenu de leur coût très élevé, du manque de personnel et d'équipements adéquats. A cela s'ajoute le taux de rechute plus élevé imputable en partie à un accès insuffisant aux technologies essentielles et surtout les médicaments [1]. Le fardeau du cancer continue de croître à l'échelle mondiale, exerçant une pression physique, émotionnelle et financière considérable sur les individus, les familles, les communautés et les systèmes de santé [6]. De nombreux systèmes de santé dans les pays à faible revenu ou intermédiaire sont les moins préparés à gérer ce fardeau occasionnant par conséquent des milliers de décès chaque année. Parmi ces pays, figure le Burkina Faso qui est aussi confronté à l'émergence du cancer due à la précarité des conditions de prise en charge des patients et à l'indigence socio-économique. La majeure partie de la population ne bénéficiant pas d'une couverture sanitaire satisfaisante, fait recours essentiellement aux plantes médicinales locales pour ses soins de santé primaires. Dans les pays à faible revenu, plus de 80 % des populations font le plus souvent recours à la médecine traditionnelle pour les soins de santé primaire [7]. Dans ce contexte, les produits tirés des plantes médicinales peuvent être une alternative dans la recherche de nouvelles molécules anticancéreuses. Ainsi, entre 1983 et 1994 plus de 60 % des médicaments anticancéreux approuvés aux Etats Unis d'Amérique étaient d'origine naturelle [8]. Des structures locales et internationales comme l'OMS encouragent et soutiennent l'usage de ces plantes thérapeutiques qui sont une source de médicaments souvent très efficaces et accessibles à tous. Le traitement de cette maladie a suscité au sein des chercheurs une course effrénée vers la recherche nouveaux médicaments anticancéreux. Les recherches scientifiques ont montré que les plantes sont de petites usines pharmaceutiques capables de produire des substances avec des propriétés biologiques intéressantes qui peuvent être parfois difficilement synthétisables en laboratoire du fait de leurs structures parfois complexes, du coût de production ou du rendement de leur synthèse. Ces plantes médicinales sont actuellement à l'étude pour leurs propriétés pharmacologiques dans le traitement du cancer. Parmi ces plantes, nous rencontrons *A. macrostachya* (Mimosaceae), une plante médicinale importante largement répandue au Burkina Faso, beaucoup utilisée traditionnellement par les phytothérapeutes dans le traitement du stress oxydatif, de l'inflammation et du cancer [5, 9, 10]. Au regard de son importance dans la pharmacopée traditionnelle et dans le souci de contribuer à la mise au point de phytomédicaments antidiabétiques, nous nous sommes intéressés à l'évaluation des propriétés antiprolifératives et pro-apoptotiques sur les lignées cellulaires K562 (leucémie), U937 (lymphome) et la toxicité sur les cellules saines en prolifération pPBMCs des différents extraits des écorces de racines et de tiges de *A. macrostachya*.

Matériel et méthodes

Matériel végétal

Les écorces de racines et de tiges de *A. macrostachya* ont été récoltées en février 2018 à Laongo, localité située à une quarantaine de kilomètres au nord de Ouagadougou, capitale du Burkina Faso, aux coordonnées GPS 12°31'50, 52"N ; 01°17'2,7"W. La plante a été identifiée par le Professeur Amadé OUEDRAOGO, Botaniste au Laboratoire de Biologie et d'Ecologie Végétale (LBEV) de l'UFR-SVT de l'Université Joseph KI-ZERBO. Un spécimen a été déposé dans l'herbarium de l'Université Joseph KI-ZERBO avec le numéro d'identification 17252. Chaque partie de la plante notamment les écorces de racines et de tiges a été ensuite lavée soigneusement puis séchée à la température ambiante et à l'abri du soleil pendant deux (02) semaines sous ventilation.

Matériel biologique

Les cellules cancéreuses de la leucémie myéloïde aiguë U937 et de la leucémie myéloïde chronique K562 ont été achetées à Deutsch Sammlung von Microorganismen und Zellkulturen (DMSZ, Braunschweig, Allemagne). Les cellules ont été cultivées dans le milieu RPMI 1640 (Lonza, Verviers, Belgique) complété par 10 % (v/v) de sérum fœtal de veau (FCS ; Sigma-Aldrich, Bornéo, Belgique) et 1 % (v/v) d'antibiotique/antimycotique (pénicilline, streptomycine et amphotéricine ; BioWhittaker, Verviers, Belgique) à 37 °C et 5 % de CO₂. Les cellules ont été régulièrement contrôlées tous les trois jours pour empêcher la contamination de mycoplasmes. Des expériences ont été réalisées sur des cellules en croissance exponentielle dans un milieu de culture RPMI 1640 contenant 10 % (v/v) FCS et 1 % (v/v) d'antibiotique. Les cellules ont étéensemencées dans des puits à une concentration de 200 000 cellules/mL une heure avant les traitements. Les cellules mononucléaires sanguines périphériques (PBMCs en anglais) ont été isolées des couches de *buffy* fraîchement recueillies de donneurs sains par centrifugation de gradient de densité en utilisant Fycoll-Hypaque (GE Healthcare, Roosendaal, Pays-Bas) comme cela a été décrit dans la littérature [11]. Trois manteaux de *buffy* ont été gracieusement donnés par la Croix-Rouge luxembourgeoise avec l'approbation du comité d'éthique de la Croix-Rouge luxembourgeoise et après avoir obtenu le consentement écrit et éclairé des donateurs. Après la purification, les cellules PBMCs ont été induites à la prolifération dans un flacon préconditionné avec 10 mL de sérum de AB humain inactivé (Corning, Manassas, VA, USA) à une densité cellulaire de 1,0 x 10⁶/mL dans le RPMI 1640 complété par 10 % (v/v) sérum humain inactivé AB et 1 % (v/v) d'antibiotique/antimycotique. La concentration cellulaire

Méthode d'extraction

Le matériel végétal sec de chaque partie de *A. macrostachya* est transformé en poudre fine en utilisant un broyeur électrique puis soumis à l'extraction. Ainsi, pour chaque extraction, une masse de 60 g de la poudre végétale a été macérée dans 250 mL de dichlorométhane d'une part et d'autre part une masse de 100 g de la poudre sèche a été macérée dans 500 mL de méthanol pendant 24h sous agitation magnétique et à la température du laboratoire. Le macéré est ensuite séparé du marc par filtration sur un papier à filtre Wattman N°3. Le filtrat ainsi obtenu est évaporé à sec au moyen d'un évaporateur rotatif (BÜCHI Rotavapor R-200) et gardé au frais pour la suite des travaux.

2.4. Méthodes d'évaluation de l'activité anticancéreuse

2.4.1. Evaluation des effets antiprolifératifs par le Cedex XS

L'effet antiprolifératif des extraits est effectué par le test de l'exclusion du bleu de trypan permettant de déterminer le nombre de cellules viables présentes dans le milieu de culture de cellules en suspension. Pour ce faire, les cellules sontensemencées dans des plaques multi-puits (plaque de 6 puits) à une concentration de 200 000 cellules/mL. Différentes concentrations de l'extrait brut préparé dans le DMSO sont ajoutés dans chaque puits tandis que le contrôle négatif est mélangé avec le même volume de DMSO. Dans toutes les expériences de cette étude, le volume de DMSO utilisé n'a pas dépassé 1 % pour éviter une toxicité significative du solvant sur les cellules testées. A des intervalles de temps réguliers de 24h, 48h et 72h, 20 µL des cellules en suspension sont additionnés à 20 µL de bleu de trypan. 20 µL du mélange sont déposés sur une lame pour la lecture au Cedex XS. Le nombre de cellules ayant survécu à la cytotoxicité de l'extrait et le pourcentage de viabilité sont fournis par un logiciel piloté par un ordinateur.

2.4.2. Evaluation des effets pro-apoptotiques

✓ Par la méthode de coloration Hoechst

Les lignées cellulaires cancéreuses K562 et U937 ont été cultivées dans un milieu RPMI 1640 additionné avec 10 % de sérum (fœtus de bœuf), 1 % d'antibiotique et incubées à 37 °C et 5 % de CO₂. Elles ont été mises en croissance exponentielle 24h avant le traitement. Pour chaque traitement, les cellules sontensemencées dans des plaques de six puits (*6-well plate*) à 200 000 cellules/mL. Différentes concentrations de l'échantillon à tester sont ajoutées dans chaque puits tandis que le contrôle négatif est mélangé avec le même volume de DMSO. Dans toutes les expériences de cette étude, le volume de DMSO utilisé n'a pas dépassé 0,25 % pour éviter une toxicité significative du solvant sur les cellules testées. Après exposition aux différents extraits en 24h et 48h, 1 mL des cellules en suspension est incubé pendant 15 min à 37 °C et 5 % de CO₂ avec un volume précis de la solution Hoechst 33342 (**Schéma 23**) (*Molecular Probes, Invitrogen*) à 1 µg/mL. A la fin de l'incubation, le pourcentage de cellules mortes a été estimé en faisant le rapport de nombre de cellules ayant une morphologie nucléaire fragmentée apoptotique sur le nombre total de cellules dans au moins 3 champs aléatoires de 300 cellules, selon l'équation 1, en utilisant un microscope à fluorescence (Olympus, Hambourg, Allemagne).

$$\frac{\text{Nombre de cellules à noyaux fragmentés ou condensés}}{\text{Nombre total de cellules}} \times 100$$

✓ Par la méthode Mito Tracker Red (MTR)

Les cellules K562 et U937 ont été cultivées dans un milieu de culture RPMI 1640 additionné à 10 % de sérum (fœtus de bœuf) et 1 % d'antibiotique ; le tout est incubé à 37 °C avec 5 % de CO₂. Les cellules sont mises en croissance exponentielle 24h avant le traitement. Pour chaque traitement, les cellules sontensemencées dans des plaques de 6 puits à 200 000 cellules/mL. Différentes concentrations des extraits bruts sont ajoutées dans chaque puits tandis que le contrôle négatif contient le même volume de DMSO. Dans toutes ces expériences, le volume du DMSO utilisé n'excédait pas 0,25 % du volume total de solvant contenu le puits de traitement. Après un traitement régulier de 24h et de 48h, 500 µL de cellules traitées ont été incubées pendant 15 min à 37 °C, 5 % de CO₂ avec 100 nM MTR. À la fin de l'incubation, le pourcentage de cellules présentant une perte potentielle de la membrane mitochondriale a été estimé selon l'équation 2, à l'aide d'un FACSCalibur (Becton Dickinson, San José, Californie) réglé à 488 nm (émission : 585 nm ; FL3-H : 625 nm).

$$\frac{\text{Nombre de cellules avec leur potentiel de la membrane mitochondriale perdu}}{\text{Nombre total de cellules dans le puits}} \times 100$$

3. Résultats et discussion

3.1. Rendement d'extraction

Comme décrit précédemment, nous avons réalisé l'extraction des écorces de racines et de tiges de *A. macrostachya* en utilisant deux types de solvants organiques à savoir le dichlorométhane et le méthanol. Ainsi, nous avons préparé en tout quatre (04) différents extraits qui sont consignés dans le **Tableau I**.

Tableau I : Récapitulatif des différents extraits obtenus

Codes	Désignations
B1	Extrait au dichlorométhane des écorces de racines de <i>A. macrostachya</i>
B2	Extrait au méthanol des écorces de racines de <i>A. macrostachya</i>
B3	Extrait au dichlorométhane des écorces de tiges de <i>A. macrostachya</i>
B4	Extrait au méthanol des écorces de tiges de <i>A. macrostachya</i>

Tous les extraits obtenus sont sous forme de poudre et les masses obtenues ont permis de calculer le rendement d'extraction selon la formule suivante :

$$R = \frac{\text{Masse de l'extrait brut}}{\text{Masse de la poudre}} \times 100$$

Les résultats obtenus sont consignés dans le **Tableau II**.

Tableau II : Rendement d'extraction des différents extraits de *A. macrostachya*

Extraits	Masse obtenue (g)	Masse de la poudre utilisée (g)	Rendement (%)
B1	1,346	59,34	2,27
B2	17,037	98,90	17,23
B3	0,857	58,47	1,47
B4	15,364	97,46	15,77

Il ressort du **Tableau II** que les rendements d'extraction sont plus importants avec le méthanol alors que les plus faibles rendements sont obtenus avec le dichlorométhane. En effet, de tous les extraits, **B2** a présenté le meilleur rendement d'extraction avec 17,23 % ; le plus faible taux (1,47 %) étant obtenu avec **B3**. Ces résultats pourraient s'expliquer par la polarité des différents solvants utilisés et la présence des composés polaires tels que les tanins qui pourraient se trouver dans l'extrait méthanolique. Par ailleurs, l'interaction entre le dichlorométhane et les constituants polaires est faible ; ce qui justifie le faible rendement d'extraction dans les extraits au DCM. Plus la polarité du solvant augmente, plus son affinité avec les composés polaires augmente et plus le rendement est important. Ainsi, la forte polarité du méthanol (comparativement au DCM) augmente l'interaction avec les constituants polaires, d'où le meilleur rendement d'extraction obtenu.

3.2. Effets antiprolifératifs des différents extraits

L'effet inhibiteur de la croissance cellulaire des différents extraits a été évalué par la méthode de bleu de trypan à des intervalles de temps réguliers de 24h, 48h et 72h. Les résultats obtenus sur les deux lignées cellulaires K562 et U937 sont représentés par la **Figure 1**.

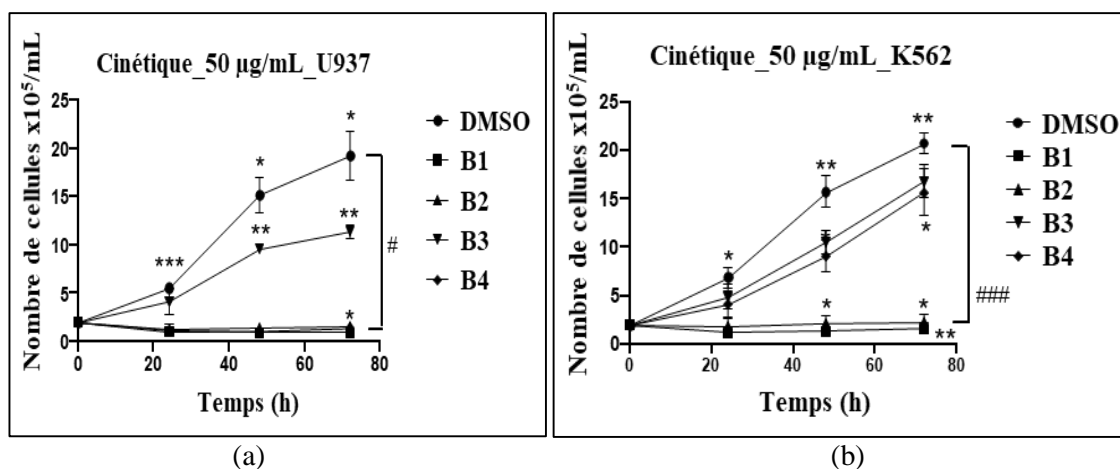


Figure 1 : Effets antiprolifératifs à 50 µg/mL des différents extraits de *A. macrostachya* et DMSO (contrôle négatif) sur les lignées cellulaires U937 et K562 pour 24h, 48h et 72h par la méthode du bleu de trypan (Cedex XS). Toutes les expériences ont été répétées trois fois et les déviations standards ont été calculées en utilisant ANOVA Two-way ; Post-hoc : Dunnett * ; # : $p < 0,5$; ** : $p < 0,1$; *** ; #### : $p < 0,01$.

Il apparaît sur la **Figure 1 (a)** que dès 24h de traitement, le nombre de cellules U937 dans les puits traités avec les extraits **B1**, **B2** et **B4** et le puits du contrôle négatif indique que les extraits ont été en mesure de bloquer complètement toute tentative de prolifération cellulaire. Globalement, nous avons effectivement trouvé, après 24h de traitement, un nombre plus petit ($< 200\ 000$ cellules/mL) de cellulesensemencées à l'instant $t = 0$ h. Ce résultat montre que les extraits ont pu empêcher les cellules de se multiplier. La diminution considérable du nombre de cellules initialement présentes dans les puits montre que les extraits, en plus de leurs effets antiprolifératifs, ont également un effet apoptotique. **B3** a modérément inhibé la prolifération des cellules cancéreuses U937. Ce résultat serait dû à l'absence de tanins, de flavonoïdes et d'alcaloïdes dans **B3**, réputés pour leurs propriétés anticancéreuses. Par ailleurs, sur la **Figure 1 (b)**, nous remarquons dans les puits traités avec **B1** et **B2** que le nombre de cellules K562 initialement introduites a diminué considérablement ; preuve qui montre que les deux extraits ont un effet antiprolifératif sur la lignée cellulaire K562. Quant aux extraits **B3** et **B4**, on remarque que le nombre de cellules dans les puits traités avec ces extraits et le nombre de cellules dans le puit témoin négatif sont voisins en témoignent les courbes de prolifération de **B3**, **B4** et du contrôle négatif (DMSO) qui croissent dans le même ordre. Ce résultat montre que ces extraits sont sans effets antiprolifératifs significatifs sur les cellules K562.

Par la suite, les effets apoptotiques des différents extraits de *A. macrostachya* sur les mêmes lignées cellulaires cancéreuses ont été évalués en quantifiant le pourcentage de cellules ayant montré une fragmentation nucléaire apoptotique (**Figure 2**) et confirmé par l'analyse de la perte du potentiel de la membrane mitochondriale.

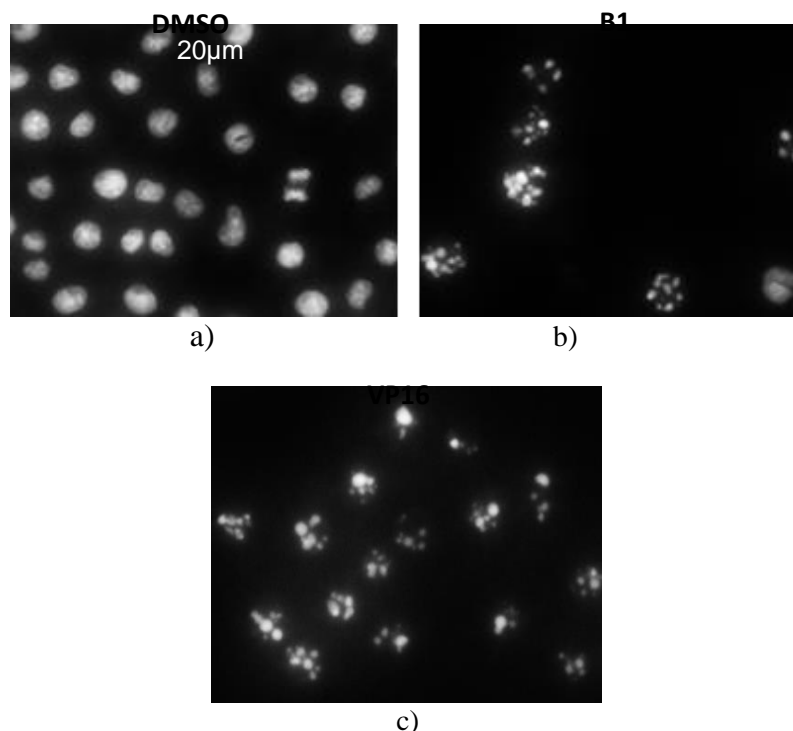


Figure 2 : Fragmentation nucléaire apoptotique induite par les substances cytotoxiques analysée par la méthode Hoechst. a) : DMSO (contrôle négatif) ; b) : B1 (extrait de *A. macrostachya*) ; c) : VP16 (contrôle positif)

3.3. Effets apoptotiques des différents extraits

L'induction de l'apoptose par les différents extraits a été estimée en utilisant deux méthodes différentes afin d'éviter une surestimation ou sous-estimation de la cytotoxicité des extraits. Il s'agit de la méthode permettant de quantifier le nombre de cellules présentant un noyau fragmenté et/ou en décomposition (colorant Hoechst) et celle permettant de mesurer le potentiel de la membrane mitochondriale (colorant Mito Tracker Red). Les résultats obtenus sont présentés sous forme d'histogrammes exprimant le pourcentage de cellules apoptotiques au bout de 24h et 48h d'exposition à la substance toxique (**Figure 3**).

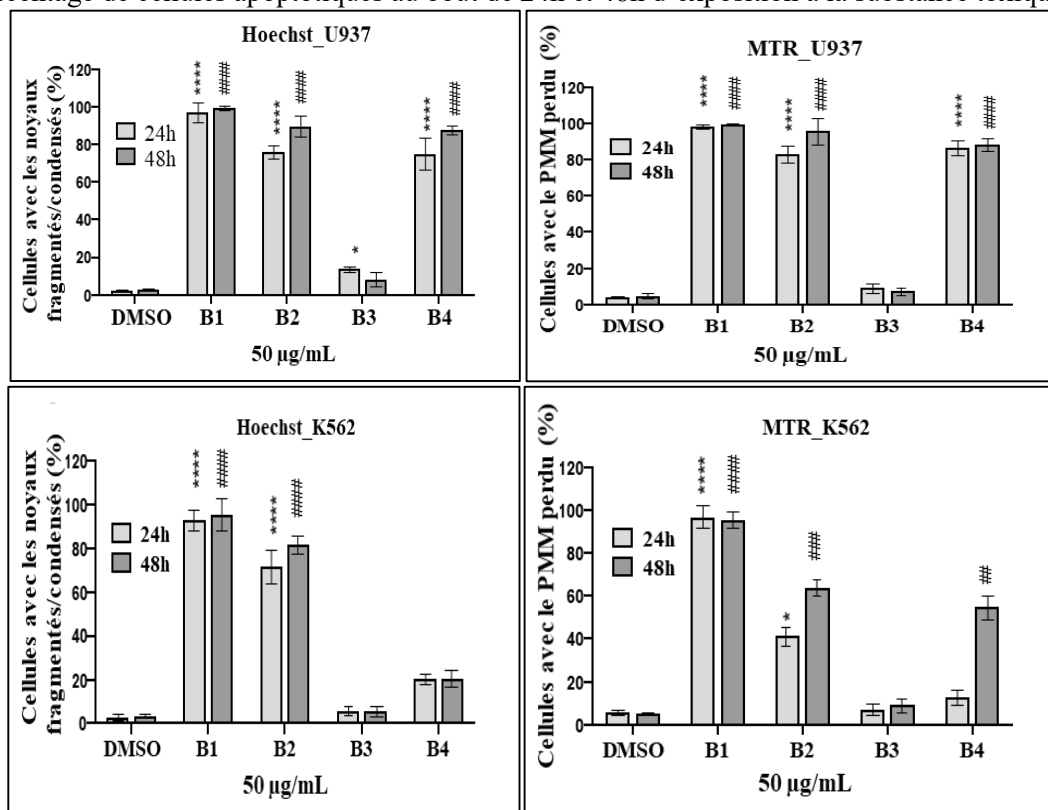


Figure 3 : Effets apoptotiques du DMSO (contrôle négatif) et des différents extraits à 50 µg/mL de *A. macrostachya* sur les lignées cellulaires U937 et K562 pour 24h, 48h par les méthodes de coloration Hoechst et Mito Tracker® Red. Les résultats sont confirmés par trois analyses indépendantes et les déviations standards ont été calculées en utilisant ANOVA Two-way ; Post-hoc : Dunnett * : $p < 0,5$; ## : $p < 0,1$; ### : $p < 0,01$; **** ; ##### : $p < 0,001$.

La **Figure 3** montre que, indépendamment de la méthode utilisée, les cellules U937 incubées avec l'extrait **B1** à la concentration de 50 µg/mL sont presque toutes mortes au bout de 24h de traitement. Quant aux cellules K562, les résultats obtenus sont similaires à ceux de U937 ; toutefois nous remarquons que le pourcentage de mort cellulaire n'atteint pas 100 % à la concentration de 50 µg/mL ; preuve qui montre que les cellules U937 sont plus sensibles au traitement avec **B1** que les cellules K562. Par ailleurs, l'analyse des résultats de la **Figure 3** révèlent que près de 80 % des cellules U937 initialement présentes dans les puits traités avec l'extrait **B2** sont mortes après 24h d'exposition à la substance toxique. Ce pourcentage atteint environ 90 % au bout de 48h de traitement. Ce résultat montre que l'activité cytotoxique de **B2** est cinétiquement dépendante. Par ailleurs, on remarque que **B2** a une cytotoxicité moindre sur les cellules K562 en témoignent les faibles pourcentages comparativement à **B1**. Après 24h de traitement des cellules U937 avec **B4**, on remarque que le pourcentage de cellules mortes est d'environ 85 %, ce pourcentage croît légèrement au bout de 48h de traitement ; preuve qui justifie que l'extrait **B4** a un effet apoptotique sur U937. Cependant, on remarque que le pourcentage de cellules K562 mortes est d'environ 20 % après 48h de traitement avec **B4** à la concentration de 50 µg/mL. Cela voudrait dire donc que les cellules K562 résistent plus à la toxicité de la fraction **B4**. Quant à **B3**, les pourcentages de cellules U937 et K562 mortes sont similaires à ceux obtenus avec le contrôle négatif (DMSO) ; preuve que **B3** n'a pas d'effets apoptotiques significatifs sur les deux lignées cellulaires cancéreuses.

3.4. Effets antiprolifératifs dose dépendante des différents extraits actifs

L'analyse de la viabilité cellulaire des cellules en suspension K562 et U937 après un traitement de 24h, 48h et 72h à 0 ; 1 ; 5 ; 10 ; 20 ; 30 et 50 µg/mL des différents extraits de *A. macrostachya* a mis en évidence la sensibilité de ces deux lignées cellulaires cancéreuses à ce traitement. Cette sensibilité croît avec le temps de traitement et la concentration de l'extrait considéré. Ces résultats sont confirmés par les valeurs des IC₅₀ (**Tableau III**).

Tableau III : Valeurs des IC₅₀ (µg/mL) des effets antiprolifératifs des différents extraits de *A. macrostachya* sur les cellules cancéreuses (U937 et K562) et normales (pPBMCs). Les valeurs sont données comme la moyenne ± déviation standard de trois essais indépendants.

Lignées cellulaires	Temps de traitement	IC ₅₀ (µg/mL)		
		Extraits de <i>A. macrostachya</i>		
		B1	B2	B4
U937	24h	3,5 ± 1,5	6,9 ± 1,6	13,1 ± 6,0
	48h	2,7 ± 0,1	9,8 ± 1,9	10,9 ± 1,7
	72h	3,0 ± 0,7	13,6 ± 6,1	12,5 ± 1,2
K562	24h	6,6 ± 1,3	13,7 ± 4,0	
	48h	6,7 ± 0,7	13,6 ± 4,9	ND
	72h	6,0 ± 0,9	12,5 ± 2,2	
pPBMCs	24h	33,1 ± 10,6	> 50	> 50
	48h	40,1 ± 6,1	> 50	> 50

ND : non déterminé

L'analyse des résultats du **Tableau III** révèle que **B1** et **B2** inhibent très significativement la prolifération des cellules U937 et K562. On remarque également que, pour une très faible concentration de l'extrait, le nombre de cellules U937 et K562 dans les puits traités avec les extraits est inférieur celui dans le puits du contrôle négatif (DMSO). **B1** a montré l'activité antiproliférative la plus remarquable contre les deux lignées cellulaires avec des valeurs IC₅₀ allant de 2,7 ± 0,1 à 3,5 ± 1,5 µg/mL et de 6,0 ± 1,0 à 6,7 ± 0,7 µg/mL sur les cellules U937 et K562 respectivement avec un taux d'inhibition maximal qui varie en fonction de la concentration de l'extrait et du temps d'incubation qui est fixé à 24h, 48h et 72h. En outre, il a inhibé deux fois plus la prolifération des cellules U937 que les cellules K562. **B4** n'a pas pu empêcher significativement les cellules K562 de proliférer. Lors du screening phytochimique, nous avons trouvé que son activité antiproliférative sur les cellules K562 était similaire à celle du DMSO. Par ailleurs, on remarque que l'activité antiproliférative des différents extraits sur les cellules normales pPBMCs provenant de donneurs sains est modérée comparativement aux cellules cancéreuses ; en témoignent les valeurs relativement élevées des concentrations permettant d'inhiber à 50 % la prolifération cellulaire. En effet, les valeurs des IC₅₀ varient de 33,1 ± 10,6 à 40,1 ± 6,1 µg/mL pour **B1** et sont supérieures à 50 µg/mL pour les extraits méthanoliques (**B2** et **B4**). Les effets antiprolifératifs sont dépendants de la dose et de la cinétique (temps de traitement) comme l'ont indiqué les figures 22, 23 et 24.

3.5. Effets apoptotiques dose dépendante des différents extraits actifs

L'effet cytotoxique des mêmes extraits sur les deux modèles de cellules cancéreuses (K562 et U937) en comparaison aux PBMCs proliférants (pPBMCs) a été investigué. La mort apoptotique des cellules a été quantifiée en estimant le pourcentage de cellules affichant des noyaux condensés/fragmentés apoptotiques et confirmés en surveillant le pourcentage de cellules montrant la perte du potentiel de la membrane mitochondriale (par les méthodes de coloration Hoechst et Mito⁹Tracker[®] Red respectivement). Les valeurs des IC₅₀ du potentiel apoptotique des extraits bruts de *A. macrostachya* contre les cellules cancéreuses (U937 et K562) ainsi que les cellules proliférantes saines (pPBMCs) sont regroupées dans le **Tableau IV**.

Tableau IV : Valeurs des IC₅₀ (µg/mL) des effets apoptotiques des différents extraits de *A. macrostachya* sur les cellules cancéreuses (U937 et K562) et normales (pPBMCs). Les valeurs sont données comme la moyenne ± déviation standard de trois essais indépendants.

Méthodes d'analyse	Lignées cellulaires	Temps de traitement	IC ₅₀ (µg/mL)		
			Extraits de <i>A. macrostachya</i>		
			B1	B2	B4
Hoechst	U937	24h	6,0 ± 0,1	24,6 ± 6,2	20,2 ± 5,0
		48h	5,6 ± 0,2	23,3 ± 6,5	22,0 ± 3,6
	K562	24h	8,2 ± 1,0	32,4 ± 9,2	
		48h	8,1 ± 2,1	30,6 ± 8,9	ND
Mito Tracker® Red	U937	24h	5,5 ± 0,2	25,9 ± 9,3	26,6 ± 1,3
		48h	5,4 ± 0,2	26,7 ± 9,2	23,6 ± 1,3
	K562	24h	8,4 ± 0,7	> 50	
		48h	8,7 ± 1,1	47,2 ± 4,9	ND
Mito Tracker® Red	pPBMCs	24h	32,0 ± 5,7	> 50	> 50
		48h	42,1 ± 16,7	> 50	> 50

L'étude du potentiel cytotoxique des différents extraits sur les lignées leucémiques chroniques et aiguës, réalisée par les méthodes de coloration Hoechst et Mito Tracker Red, a mis en évidence une sensibilité variable à ces traitements des différentes lignées cancéreuses (U937 et K562) étudiées (**Tableau IV**). En effet, les lignées K562 apparaissent moins sensibles au traitement que les lignées U937 en témoigne la valeur plus faible de l'IC₅₀ qui est de 5,4 µg/mL pour la lignée U937 contre 8,4 µg/mL pour la lignée K562. Par ailleurs, de tous les extraits et indépendamment de la méthode analytique utilisée, **B1** possède l'effet pro-apoptotique le plus élevé avec des valeurs des IC₅₀ qui varient de 5,4 ± 0,2 à 6,0 ± 0,1 µg/mL sur U937 et de 8,1 ± 2,1 à 8,7 ± 1,1 µg/mL sur K562. Les cellules K562 sont résistantes au traitement avec **B4**. Dans l'ensemble, les extraits présentent un effet pro-apoptotique dose dépendante. Par conséquent, une proportion significative des cellules mortes est relative à la concentration de l'extrait administrée. Par ailleurs, **B1** a montré une toxicité non négligeable sur les modèles de cellules saines (pPBMCs) comparativement aux extraits **B2** et **B4**. Néanmoins, cette cytotoxicité reste environ 7 à 10 fois moindre sur les pPBMCs comparativement aux cellules cancéreuses. **B2** et **B4** ont également montré une cytotoxicité très modérée contre les pPBMCs en témoignent les valeurs des IC₅₀ relativement élevées (> 50 µg/mL).

L'activité antiproliférative et l'effet apoptotique notoires des différents extraits de *A. macrostachya* pourraient être justifiés par une synergie d'action de certains composés secondaires tels que les terpénoïdes/stéroïdes, les flavonoïdes et les alcaloïdes mis en évidence dans les extraits lors de nos investigations antérieures. En effet, les alcaloïdes sont doués de propriétés pharmacologiques marquées, parmi lesquelles les propriétés anticancéreuses. Par exemple, la vinblastine et la vincristine, isolées à partir des extraits de la pervenche tropicale de Madagascar *Catharanthus roseus*, sont des agents anticancéreux actuellement utilisés dans le traitement du cancer du poumon, du sein et du lymphome [12, 13]. D'autres études menées sur certaines classes d'alcaloïdes ont montré que la solasodine est utilisée dans le traitement de certains cancers de la peau [14] alors que la bufaline est active contre la leucémie, les tumeurs hépatiques et le cancer de la prostate [15]. Parallèlement, des études menées sur des extraits de plantes enrichis en polyphénols et particulièrement en flavonoïdes ont mis en évidence les propriétés anticancéreuses de ces groupes chimiques. C'est ainsi que Sawadogo et al. ont montré en 2011 qu'un extrait enrichi en flavonoïdes de *A. macrostachya* inhibe de 95 % la prolifération des cellules cancéreuses KB à la concentration de 10 µg/mL [5]. Le même auteur a montré en 2015 que la polyméthoxyflavone, un flavonoïde isolé de *L. ukambensis*, a des effets antiprolifératifs et pro-apoptotiques pertinents contre les cellules U937 [16]. Des recherches récentes ont révélé que les proanthocyanidines (tanins) présentes dans les grains de raisin induisent l'apoptose des lignées leucémiques U937, HL-60 et Jurkat [17]. D'autres auteurs ont révélé que l'hétéronémine, un sesterpénoïde isolé à partir d'une famille d'éponges marines (*Hyrtios sp.*), est indiqué comme une molécule à caractère chimiopréventif et à action antitumorale [18]. Le lycopène, un terpène que l'on retrouve dans de nombreux fruits et légumes de couleur rouge ou orange (tomates, pastèques, carottes, papayes, etc.) présente également un effet antiprolifératif et pro-apoptotique dans les lignées leucémiques EHEB et K562 [19].

Dans l'ensemble, il a été observé que les extraits des écorces de racines (**B1** et **B2**) de *A. macrostachya* ont montré de meilleurs résultats cytotoxiques que ceux des écorces de tiges. Les différences de compositions chimiques pourraient être l'une des raisons. En effet, la composition chimique peut varier considérablement d'un organe à l'autre d'une même plante. **B1** et **B2** contiendraient plus de composés ayant des liens biologiques majeurs en raison de leur origine tissulaire. La forte activité anticancéreuse de **B1** serait due à la présence exclusive des alcaloïdes dans l'extrait, et qui sont doués de propriétés anticancéreuses avérées. De plus, les différents extraits ont montré deux effets biologiques majeurs à savoir cyostatiques et cytotoxiques. Le fort effet cytotoxique de **B1** et **B2** est un facteur déterminant pour expliquer leurs effets cytostatiques puissants.

4. Conclusion

Dans cette étude, la cytotoxicité différentielle induite par deux types d'extraits des écorces de racine et de tige de *Acacia macrostachya* dans les cellules leucémiques U937 et K562 par rapport à la prolifération de pPBMC non cancéreux (cellules saines) provenant d'individus en bonne santé a été évaluée. Nos résultats documentent une activité antiproliférative et pro-apoptotique sélective des extraits B1, B2 et B4 dans les deux lignées cellulaires cancéreuses. En revanche, les modèles cellulaires proliférants non cancéreux n'ont pas été ou seulement très modérément touchés. Sur la base de résultats publiés précédemment, c'est la première fois que différents extraits des écorces de racine et de tige de la plante *Acacia macrostachya* ont été étudiés pour leur activité cytotoxique. Cependant, l'utilisation d'extraits et le nombre limité de modèles cellulaires testés représentent les limites de la présente étude. Dans nos futures recherches, une scission bioguidée sera effectuée pour isoler, identifier et caractériser les molécules anticancéreuses de *A. macrostachya*. En outre, sur la base de résultats préliminaires in vitro/ex vivo, nous prévoyons d'étendre notre analyse à un panel plus large de modèles de cellules cancéreuses et d'effectuer des études in vivo.

5. Références bibliographiques

- Organisation Mondiale de la Santé (OMS). cancer. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer> 12 Sept. 2018 (2018).
- Bray F., Ferlay J., Soerjomataram I., Siegel R.L., Torre L.A., Jemal A. Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *Ca Cancer J. Clin.* **68**, 394–424 (2018).
- Steliarova-Foucher E., Colombet M., Ries L., et al. International incidence of childhood cancer, 2001–10: a population-based registry study. *Lancet Oncol.* **18**, 719–731 (2017).
- Gupta S., Howard S.C., Hunger S.P., et al. Treating Childhood Cancer in Low- and Middle-Income Countries. In: Disease Control Priorities, volume 3. <http://dcp-3.org/chapter/900/treating-childhood-cancers-low-and-middle-income-countries>.
- Sawadogo W.R., Maciuk A., Banzouzi J.T., Champy P., Figadere B., Guissou I.P. and Nacoulma O.G. Mutagenic effect, antioxidant and anticancer activities of six medicinal plants from Burkina Faso. *Nat. Prod. Res.* **26**, 575–579 (2012).
- Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Journée mondiale du diabète 14 novembre 2018. <https://news.un.org/fr/story/2018/11/1029181> (2018).
- Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Stratégie de l'OMS pour la Médecine Traditionnelle pour 2002–2005. *WHO/EDM/TRM/2002.1* (2002). Genève, Suisse.
- Stévigny C., Bailly C., Quetin-Leclercq. J. Cytotoxic and antitumor potentialities of aporphinoid alkaloids. *Curr. Med. Chem. Anticancer agents* **5**, 173–182 (2005).
- Guissou I.P. Valorisation scientifique (pharmacochimie) des plantes médicinales du Burkina Faso : expérience de l'IRSS. *Commun. la pharmacopée africaine Bamako* 06–08 (2002).
- Tondé I., Fofana S., Gnoula C., Palé E., Nébié R.H.C., Nikiema J.B., Simporé J. and Guissou I.P. Antiplasmodial and DPPH radical scavenging effects in extracts from *Acacia macrostachya* (mimosaceae). *World J. Pharm. Res.* **5**, 219–233 (2016).
- Aloran M., Jin-Young L., Oualid T., Claudia C., Sébastien C., Anthoula G. et al., Hydroxycoumarin OT-55 kills CML cells alone or in synergy with Imatinib or Synribo: involvement of ER stress and DAMP release. *Cancer Lett.* **438**, 197–218 (2018).
- Fahy J. Modifications in the « upper » or Velbenamine Part of the Vinca Alkaloids have Major Implications for Tubulin Interacting Activities. *Curr. Pharm. Des.* **7**, 1181–1197 (2001).
- Gaascht M., Teiten H., Schumacher M., Dicato M., Diederich M. Approche végétale dans le traitement des leucémies. *Corresp. en Onco-hématologie* **2**, 102–108 (2010).
- Esteves-Souza A., Silva T.M., Alves C.C.F., Carvalho M.G.; Braz-Filho R., Echevarria A. Cytotoxic Activities Against Ehrlich Carcinoma and Human K562 Leukemia of Alkaloids and Flavonoids from Two Solanum Species. *J. Braz. Chem. Soc.* **13**, 838–842 (2002).
- Ye M., Qu G., Guo H., Guo D. Novel cytotoxic bufadienolides derived from bufalin by microbial hydroxylation and their structure-activity relationships. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **91**, 87–98 (2004).
- Sawadogo W.R., Cerella C., Al-Mourabit A., Moriou C., Teiten M.H., Guissou I.P., Dicato M., Diederich M. Cytotoxic, antiproliferative and pro-apoptotic effects of 5-Hydroxyl-6,7,3,4,5-Pentamethoxyflavone isolated from *Lantana ukambensis*. *Nutrients* **7**, 10388–10397 (2015).
- Gao N., Budhraj A., Cheng S., Senping C., Hua Y., Zhuo Z., Xianglin S. Induction of apoptosis in human leukemia cells by grape seed extract occurs via activation of c-Jun NH2-terminal kinase. *Clin Cancer Res* **15**, 140–149 (2009).
- Marc S., Claudia C., Serge E., Sébastien C., Franck M., Marcel J., Mario D., Marc D. Heteronemin, a spongy sesterterpene, inhibits TNF alpha-induced NF-kappaB activation through proteasome inhibition and induces apoptotic cell death. *Biochem Pharmacol* **79**, 610–622 (2010).
- Salman H., Bergman M., Djaldetti M., Bessler H. Lycopene affects proliferation and apoptosis of four malignant cell lines. *Biomed Pharmacother* **61**, 366–369 (2007).

Activités antifongiques des partitions de l'extrait hydroalcoolique de *Erythrina senegalensis* sur les germes résistants responsables de candidoses chez les sujets infectés par le VIH

Ousmane Coulibaly^{1,2,3,5*}, Pegnonsienne Lassina Soro⁵, Tidiane Kamagate⁴, Chiaye Yapo-Crezoit², Yaya Soro³, Karamoko Ouattara⁵

¹Laboratoire de mycologie et parasitologie de l'Institut Pasteur BP 490 Abidjan 01- Côte d'Ivoire

²Laboratoire d'immunologie de l'Institut Pasteur BP 490 Abidjan 01- Côte d'Ivoire

³Laboratoire des sciences des procédés chimique, alimentaire et environnementaux de l'INPHB BP 1313 Yamoussoukro - Côte d'Ivoire

⁴Laboratoire de biotechnologie et valorisation des agro-ressources, UFR de sciences biologiques, Université Peleforo Gon Coulibaly BP 1328 Korhogo – Côte d'Ivoire

⁵UFR agriculture, ressources halieutiques et agro-industries de l'Université de San-Pedro BP 1800 San-pedro – Côte d'Ivoire

RÉSUMÉ

Contexte : Le taux de mortalité des candidoses chez les sujets infectés par le VIH étant très élevé, *Erythrina senegalensis*, plante médicinale ivoirienne, serait une alternative au problème de la prise en charge des malades.

Objectif : Evaluer in vitro l'activité antifongique des extraits de feuilles d'*Erythrina senegalensis* sur des souches résistantes de *Candida albicans*.

Méthodologie : Les méthodes de double dilution en milieu liquide et de diffusion en milieu solide ont été utilisées pour les tests antifongiques réalisées sur les partitions de l'extrait hydroalcoolique des feuilles de *Erythrina senegalensis*.

Résultats acquis : La partition à l'hexane a été la plus active avec une CMI de 3,12 mg/ml, une CI₅₀ de 0,95 mg/ml sur *Candida albicans*. Avec un diamètre d'inhibition de 14 mm, cette partition a une activité antifongique sur les souches de *Candida albicans* résistantes à l'amphotéricine B et au fluconazole qui sont les antifongiques prescrits aux PVVIH atteintes de candidoses.

Conclusion et perspectives : La partition à l'hexane de *Erythrina senegalensis* a donc une action fongistatique sur les souches résistantes de *Candida albicans*. Cette partition, pourrait donc être utilisée comme Médicament Traditionnel Amélioré (MTA) dans le traitement des mycoses chez les sujets infectés par le VIH.

Mots clés : *Erythrina* ; partition ; VIH ; candidose.

ABSTRACT

Background: Since the mortality rate of candidiasis in HIV-infected subjects is very high, *Erythrina senegalensis*, an Ivorian medicinal plant, would be an alternative to the problem of patient care.

Objective: To evaluate in vitro the antifungal activity of *Erythrina senegalensis* leaf extracts on resistant strains of *Candida albicans*.

Methodology: The methods of double dilution in liquid medium and diffusion in solid medium were used for the antifungal tests carried out on the partitions of the hydroalcoholic extract of the leaves of *Erythrina senegalensis*.

Acquired results: The hexane partition was the most active with a MIC of 3.12 mg/ml, an IC₅₀ of 0.95 mg/ml on *Candida albicans*. With an inhibition diameter of 14 mm, this partition has antifungal activity on strains of *Candida albicans* resistant to amphotericin B and fluconazole, which are the antifungals prescribed to PLHIV suffering from candidiasis.+9

Conclusion and perspectives : The hexane partition of *Erythrina senegalensis* therefore has a fungistatic action on resistant strains of *Candida albicans*. This score could therefore be used as an Improved Traditional Medicine (ITM) in the treatment of fungal infections in HIV-infected subjects.

Keywords: *Erythrina*; partition ; HIV; candidiasis.

I. Introduction

Les candidoses sont des mycoses provoquées *Candida albicans*, mycètes encapsulés de type levures qui infectent majoritairement des personnes dont le système immunitaire est affaibli [1]. Devenue le principal facteur favorisant ces candidoses, l'infection à VIH a modifié l'épidémiologie de ces maladies opportunistes. En Afrique subsaharienne, les candidoses qui restent les causes majeures des mycoses opportunistes, occupent le quatrième rang des décès dus aux maladies infectieuses [2]. Ce taux de mortalité très élevé chez les sujets infectés par le VIH dans nos pays en développement serait dû à l'inaccessibilité des antifongiques classiques à nos populations compte tenu de leur coût très élevé. Aussi, certaines études ont-elles montré la toxicité rénale et hématologique de l'Amphotéricine B. [3].

Ainsi, pour résoudre ce problème de la prise en charge des candidoses chez les sujets infectés par le VIH, la recherche alternative de nouvelles molécules plus efficaces et moins coûteuses dans notre patrimoine floristique est nécessaire. D'où cet intérêt pour *Erythrina senegalensis*, une plante utilisée en médecine traditionnelle ivoirienne contre les candidoses. Appelée « Kinjê » par le groupe ethnique AKAN de Côte d'Ivoire, *Erythrina senegalensis* est un arbuste épineux de 6 à 7 m de hauteur qui est très répandu en Afrique de l'ouest [4]. Les extraits de feuilles sont indiqués dans le traitement des affections buccales, des dermatoses, des douleurs abdominales, des infections bronchiques et de la toux [5].

La présente étude qui s'inscrit dans le cadre de la recherche d'une phytomolécule antifongique plus efficace et adaptée, est une contribution à la lutte contre les candidoses chez les sujets infectés par le VIH. Elle consistera à déterminer l'activité antifongique des partitions issues de l'extrait total hydroalcoolique des feuilles de *Erythrina senegalensis*, sur *Candida albicans* en comparaison avec les antifongiques classiques prescrits régulièrement aux malades infectés par le VIH. Il s'agira également d'effectuer un screening phytochimique afin d'identifier les groupes chimiques responsables de ces dites activités antifongiques.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel

Matériel végétal : Le matériel végétal est constitué de feuilles de *Erythrina senegalensis* (Fabaceae) située dans la région de la NAWA au sud-ouest de la Côte d'Ivoire dont les coordonnées géographiques sont : 5°47'08" Nord - 6°36'29" Ouest, Altitude : 134 mètres. Cette plante a été authentifiée au centre national de floristique de l'université Félix Houphouët Boigny de Cocody en Côte d'Ivoire. (**Figure 1**)



Figure 1 : Photographie d'un pied de *Erythrina senegalensis* (Photo Coulibaly, 2016)

Matériel biologique : Le pathogène fongique utilisé lors de cette étude est l'isolat MY18-22998/18346 de *Candida albicans* sensible et l'isolat MY18-53502/18870 de *Candida albicans* résistante à l'Amphotéricine B et au Fluconazole. Ces différentes souches ont été isolées de prélèvements de patients infectés par le VIH/SIDA au laboratoire de mycologie de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire. Elles ont été cultivées dans un milieu de culture constitué de gélose Sabouraud au Chloramphénicol.

2.2. Méthodes

Collecte de la plante : Les feuilles de *Erythrina senegalensis* ont été récoltées, lavées puis séchées à l'abri du soleil. Après trois semaines de séchage, les feuilles devenues sèches ont été broyées dans un broyeur IKA-MAG. La poudre fine obtenue après broyage a été conservée dans des bocaux en verre au congélateur à -4°C.

Préparation de l'extrait total hydro alcoolique [6] : Cent (100) grammes de poudre de *Erythrina senegalensis* ont été dissous dans 500 ml d'une solution d'éthanol à 70% puis homogénéisés pendant 24H à la température ambiante de la salle, à l'aide de l'agitateur magnétique IKA-MAG. Après décantation, le surnageant a été recueilli, filtré deux fois sur du coton hydrophile puis sur du papier Whatman de 3 mm de diamètre. Le filtrat obtenu a été évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif de BUCHI. La pâte résultante a été séchée à l'étuve à 60°C jusqu' à l'obtention d'une poudre sèche qui a constitué l'extrait total hydro alcoolique.

Partitionnement de l'extrait total hydro alcoolique [7][8] : L'extrait hydroalcoolique obtenu a été introduit dans une ampoule à décanter et épuisé trois fois avec 150 mL d'hexane. Après décantation, la

phase à l'hexane a été récupérée, séchée sur du sulfate de magnésium puis filtrée à l'aide de papier WATTMAN de 3 mm de diamètre. L'hexane a été éliminé à l'évaporateur rotatif de BUCHI et la poudre de la partition à l'hexane (F_{hex}) obtenue a été conservée dans un bocal sombre au réfrigérateur EXPRESSCOOL à -4 °C jusqu'à son utilisation.

La même opération a été successivement réalisée avec le dichlorométhane (F_{dcm}) et l'acétate d'éthyle (F_{ace}). A la fin, la partition aqueuse a été évaporée puis séchée à l'étuve de type MEMMERT à 60 °C.

Calcul de rendement : Le rendement des partitions de l'extrait ETHA des feuilles a été calculé selon la formule suivante : $Rd = (m \times 100) / M$

Rd: rendement du partitionnement (%); m: masse de la partition (g); M: masse de l'extrait végétal (g)

Préparation de l'inoculum : On a prélevé à l'aide d'une anse de platine, une jeune colonie de *Candida albicans* qui est homogénéisée dans 10 ml d'eau distillée stérile afin d'obtenir la suspension mère (10^0) concentrée à 10^6 cellules/ml. A partir de la suspension (10^0), on prépare une seconde suspension (10^{-1}) par dilution au 1/10^{ème} de la première afin d'obtenir une suspension de 10^5 cellules/ml qui a constitué l'inoculum fongique.

Réalisation des tests d'évaluation : Les tests d'évaluation permettent de déterminer les paramètres antifongiques (CMI, CI_{50} , CMF) grâce à la méthode de double dilution en tube incliné [9].

Pour chacune des partitions de l'extrait ETHA des feuilles de *Erythrina senegalensis*, une série de 12 tubes à essais a été préparée. Elle comportait 10 tubes tests et 2 tubes témoins dont l'un sans partition végétale constituant le témoin de croissance du pathogène fongique et l'autre sans partition végétale et sans pathogène fongique servant de témoin de contrôle de stérilité du milieu gélosé. Ainsi, 2g de partition végétale ont été homogénéisés dans 20 ml de gélose Sabouraud chloramphénicol liquide à 40°C dans le tube T_1 afin d'obtenir dans ce tube, la concentration de 100 mg/ml. La moitié de ce tube T_1 a été transférée dans un tube T_2 contenant 10 ml de gélose afin d'obtenir dans ce tube T_2 , la concentration de 50 mg/ml. Cette opération est répétée successivement pour les autres tubes jusqu'au tube T_{10} qui a obtenu la plus faible concentration de 0,195 mg/ml. Les 10 tubes tests ont donc permis d'obtenir une gamme de concentrations décroissantes des partitions végétales allant de 100 mg/ml à 0,195 mg/ml selon une liaison géométrique de raison 1/2. Après une stérilisation à l'autoclave à 121°C pendant 15 mn, les tubes à essai obtenus ont été inclinés à la température ambiante pour permettre le refroidissement et la solidification de la gélose contenant les partitions de l'extrait ETHA des feuilles de *Erythrina senegalensis*.

L'inoculum fongique préparée (10^5 cellules/ml) est utilisée pour ensemercer les 12 tubes à essai préparés sauf le témoin de contrôle de la stérilité. Les tubes à essai ont ensuite été portés à incubation à 37°C pendant 48H puis on a dénombré par comptage direct, les colonies présentes dans chaque tube (les tests ont été répétés 3 fois).

La croissance du germe dans chaque tube à essai est exprimée en pourcentage de survivance (S) et calculée selon la formule suivante : $S = n / N \times 100$

S= % de survivance n= nombre de colonies du tube-test N= nombre de colonies du tube-témoin

Le traitement de ces données expérimentales permet de déterminer les paramètres antifongiques qui sont la CMI, CI_{50} et CMF :

- la CMI ou concentration minimale inhibitrice est la concentration minimale pour laquelle il n'y a aucune croissance visible à l'œil nu.

- La CI_{50} ou concentration inhibitrice 50% est la concentration qui correspond à 50% d'inhibition. Elle est déterminée graphiquement à partir de la courbe de sensibilité.

- la CMF ou concentration minimale fongicide est la plus faible concentration à partir de laquelle il n'y a pas de reprise de la croissance fongique. Elle est déterminée à partir d'une subculture réalisée après 48H d'incubation sur gélose neuve à partir des tubes au sein desquels aucune croissance n'a été observée.

Réalisation des tests d'efficacité : L'activité antifongique des extraits a été confirmée par la méthode de diffusion en milieu gélosé à partir de disques imbibés de partitions végétales ou des antifongiques de références décrite par **Traore et al.(2012)** [8].

Le principe de la méthode de cette méthode repose sur la diffusion à partir d'un disque, de la substance antifongique active dans la gélose contenant le germe fongique avec la création d'un gradient de concentration. Des disques stérilisés de 6 mm de diamètre découpés sur du papier Wathman, sont déposés dans les partitions de l'extrait ETHA des feuilles de *Erythrina senegalensis* pendant 1 heure. L'inoculum fongique préparé (10^5 cellules/ml) est étalé à la surface de la gélose Sabouraud-

chloramphénicol coulée en boîte de Pétri stérilisée puis séché à 37°C pendant 5 min. Dans chaque boîte de pétri inoculée, les disques ainsi imbibés de partitions végétales sont déposés à côté de disques imbibés d’Amphotéricine B et de Fluconazole et de 5-Fluorocytosine, qu’on laisse incuber à 37°C pendant 48H. Autour de chaque disque contenant une partition ou un antifongique de référence, des diamètres d’inhibition sont observés et mesurés (le test a été répété 3 fois pour chaque partition).

Screening phytochimique : Le criblage phytochimique a été effectué dans le but de déceler les grands groupes chimiques contenus dans les extraits totaux des feuilles de *Erythrina Senegalensis*.

3. Résultats et discussion

3.1. Rendement des partitions issues des extraits hydroalcooliques de feuilles de *Erythrina senegalensis*

Les partitionnements effectués sur les extraits hydroalcooliques des feuilles de *Erythrina senegalensis* ont permis d’obtenir les partitions à l’hexane (F_{hex}), au dichlorométhane (F_{dcm}), à l’acétate d’éthyle (F_{ace}) et aqueuses finales (F_{aqf}) avec des rendements consignés dans le **tableau I**.

Tableau I : Rendements des partitions de *Erythrina senegalensis*

Partition de plante	Rendements (%)			
	F _{hex}	F _{dcm}	F _{ace}	F _{aqf}
<i>Erythrina senegalensis</i>	45,83 ± 0,36	14,56 ± 0,72	8,28 ± 1,16	31,33 ± 2,05

F_{hex} : Partition à l’hexane, F_{dcm} : Partition au dichlorométhane, F_{ace} : Partition à l’acétate d’éthyle, F_{aqf} : Partition aqueuse finale

Les partitionnements successifs de l’extrait hydroalcoolique des feuilles de *Erythrina senegalensis* avec des solvants à polarités croissantes a permis d’obtenir des partitions dont les rendements sont variables de 8,28 % à 54,31 %. C’est la partition à l’hexane qui a donné le meilleur rendement car selon **Goly et al. (2015)** [10] l’hexane est utilisé généralement pour les délipidations des extraits de poudres de plantes. Ainsi, un rendement élevé de la partition à l’hexane pourrait être dû à une forte présence de composés lipidiques dans les feuilles de *Erythrina senegalensis*.

3.2. Activité antifongique des partitions issues de l’extrait hydroalcoolique des feuilles de *Erythrina senegalensis*

Au bout de 48 heures d’incubation à 37 °C, la croissance des colonies de *Candida albicans* dans les tubes à essais, exprimée en pourcentage de survivance (S), est traduite sous forme de courbes de sensibilité présentées à la **Figure 2**.

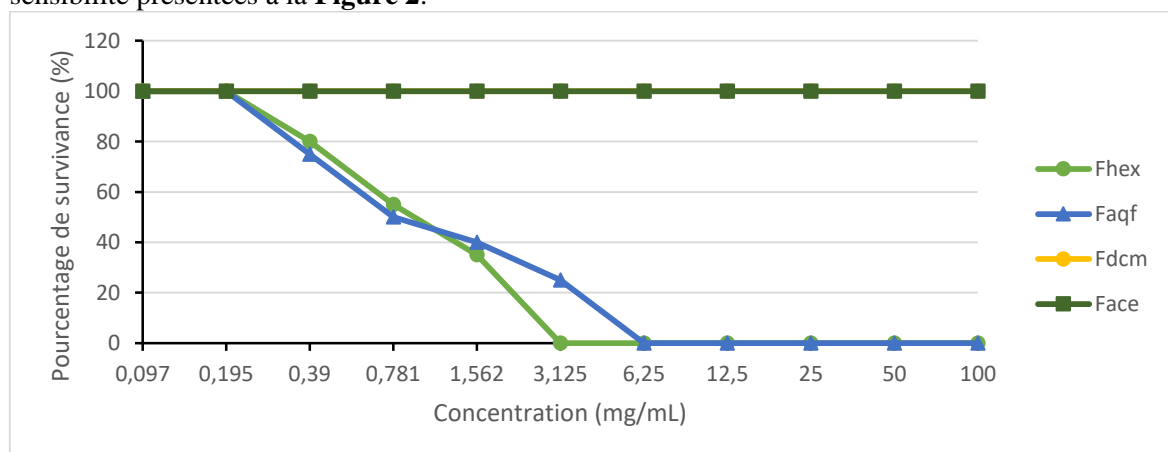


Figure 2 : Courbes de sensibilité des partitions issues de l’extrait hydroalcoolique des feuilles de *Erythrina senegalensis* vis-à-vis de *Candida albicans*

Parmi les partitions issues de l’extrait hydroalcoolique de *Erythrina senegalensis*, seules les partitions F_{hex} et F_{aqf} ont entraîné une inhibition nette et effective de *Candida albicans* avec des CMI respectives de 3.125 et 6.25 mg/mL. Quant aux partitions F_{dcm} et F_{ace}, aucune activité antifongique significative n’a été observée dans les tubes à essais. Ces réponses sont justifiées par le principe de la partition successive qui a consisté à utiliser plusieurs solvants de polarités différentes dans un ordre

précis en vue d'extraire tous les composés extractibles solvant après solvant. L'ordre de la polarité croissante des solvants étant l'hexane, le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle et l'eau, les composés bioactifs sont isolés et concentrés progressivement selon leur polarité, pendant le partitionnement [7][8].

La faible activité antifongique de la partition Faqf, pourrait s'expliquer par le fait que, étant le dernier solvant polaire utilisé, l'eau a récupéré très peu de composés bioactifs qui avaient déjà été extraits par l'hexane comme solvants antérieurs.

La CMF a été recherchée expérimentalement et aucune des nouvelles concentrations appliquées, n'a pu empêcher la réapparition des colonies après 48H de réincubation. Les partitions F_{hex} et F_{aqf} de *Erythrina senegalensis* ont donc un effet fongistatique sur les souches de *Candida albicans*.

3.3. Efficacité des partitions actives de *Erythrina senegalensis* sur des souches sensible et résistante de *Candida albicans*

L'évaluation de l'efficacité de la partition la plus active (F_{hex}) issue de l'extrait hydroalcoolique des feuilles de *Erythrina senegalensis* a permis d'obtenir dans les boîtes de pétri, des diamètres de zones d'inhibition de la croissance des souches sensibles et résistantes de *Candida albicans* exprimés par les histogrammes des **figure 3 et 4**.

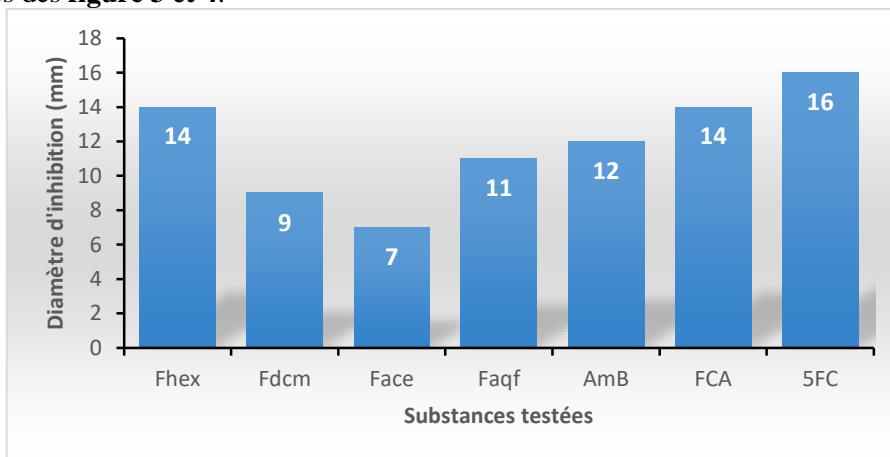


Figure 3 : Efficacité des partitions issues de l'extrait ETHA de *Erythrina senegalensis* et des antifongiques de référence sur des souches sensible de *Candida albicans*.

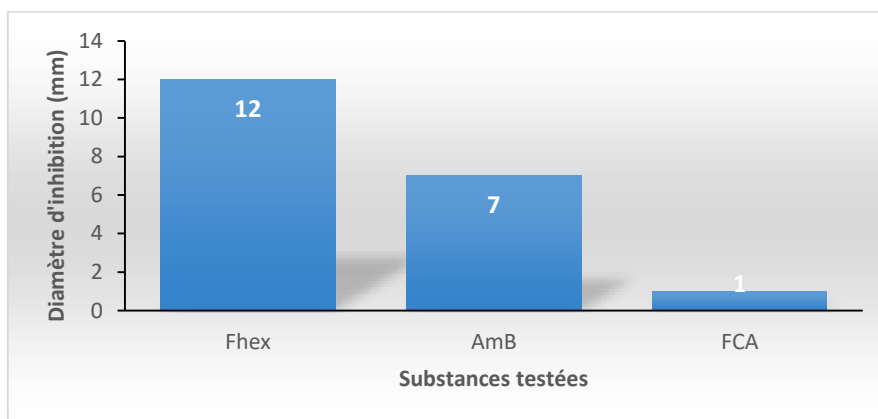


Figure 4 : Efficacité de la partition à l'hexane (F_{hex}) de *Erythrina senegalensis* et des antifongiques de référence sur une souche résistante de *Candida albicans*.

Les tests d'efficacité effectués sur des souches sensibles et résistantes de *Candida albicans*, ont permis de comparer l'activité antifongique de la partition à l'hexane des feuilles de *Erythrina senegalensis* à celle de l'Amphotéricine B et le Fluconazole, antifongiques régulièrement utilisés pour le traitement des candidoses des sujets infectés par le VIH.

Avec la souche sensible de *Candida albicans*, les diamètres d'inhibition des partitions F_{hex}, Faqf et des antifongiques testés sont supérieurs au seuil de sensibilité de 10 mm. Cela signifie que la partition F_{hex} est aussi efficace que l'Amphotéricine B, le Fluconazole et le 5-Fluorocytosine sur la

souche sensible de *Candida albicans*. En effet, selon **Biyiti et al. (2004)** [11] une substance est dite active sur un germe lorsque son diamètre d'inhibition est supérieur ou égal à 10 mm.

Cependant sur la souche résistante de *Candida albicans* les diamètres d'inhibition obtenus avec l'Amphotéricine B et le Fluconazole sont inférieurs au seuil de sensibilité de 10 mm contrairement à la partition à l'hexane. Cela confirme l'inefficacité de ces antifongiques de référence et l'efficacité de cette partition Fhex de *Erythrina senegalensis* sur la souche de *Candida albicans* résistante à l'Amphotéricine B et au Fluconazole. Selon **Ziouti et al. (1996)** [12], la résistance et la sensibilité ne sont pas toujours liées à la présence d'un seul composé ou une seule classe de molécules ; ce sont des mécanismes complexes qui font appel à plusieurs types de molécules. Cela pourrait donc expliquer l'efficacité de la partition Fhex de *Erythrina senegalensis* sur la souche résistante de *Candida albicans*.

3.4. Phytocomposés des partitions de l'extrait hydroalcoolique de *Erythrina senegalensis*

Le criblage phytochimique a permis de détecter dans les partitions de l'extrait hydroalcoolique de *Erythrina senegalensis*, les différentes familles de métabolites secondaires présentes. Les résultats obtenus sont présentés dans le **Tableau II**.

Tableau II: Familles de métabolites secondaires contenus dans les partitions issues des extraits hydroalcooliques de feuilles de *Erythrina senegalensis*

es de métabolites secondaires	Partitions			
	Fhex	Fdcm	Face	Faqf
Stérols et Terpènes	+	-	-	+
Alcaloïdes	-	-	-	-
Polyphénols	+	+	-	-
Flavonoïdes	+	-	-	+
Anthocyanes	-	-	-	-
Tanins	-	-	-	-
Quinones	-	-	-	-

(+) : présence (-) : absence F_{hex} : Partition à l'hexane, F_{dcm} : Partition au dichlorométhane, F_{ace} : Partition à l'acétate d'éthyle, F_{aqf} : Partition aqueuse finale

Le criblage phytochimique a révélé dans la partition Fhex qui est la plus active de l'extrait hydroalcoolique des feuilles de *Erythrina senegalensis*, la présence commune de stérols et terpènes et de flavonoïdes. Ces résultats sont en concordance avec les travaux de **Ligor et al. (2018)** [13] pour qui l'hexane fait partie des solvants les plus utilisés pour l'extraction des polyphénols (flavonoïdes.) et des polyterpènes (stérols et terpènes). Selon **Owoseni et al. (2010)** [14], ces familles de métabolites secondaires sont bien connues pour leurs activités antimicrobiennes. En effet, grâce à leurs groupements hydroxyles libres, les flavonoïdes et les stérols et terpènes de la partition Fhex de *Erythrina senegalensis* pourraient entraîner la mort des pathogènes fongiques par la destruction des membranes cellulaires suite à une perte totale de l'homéostasie (**Hammer et al., 2003; Hajoui et al., 2014**) [15][16].

4. Conclusion

Au terme de cette étude, nous pouvons affirmer que le partitionnement de l'extrait hydroalcoolique de *Erythrina senegalensis* a permis d'obtenir la partition à l'hexane qui a une activité fongistatique sur les souches sensibles et résistantes de *Candida albicans* plus intéressante que celle de l'amphotéricine B et le fluconazole qui sont les antifongiques couramment prescrits aux malades du sida atteints de cryptococcoses. Ces antifongiques classiques ayant montré leurs limites dans le traitement des candidoses, l'usage de cette plante médicinale comme médicament traditionnel amélioré (MTA) plus efficace et moins coûteux pourrait être bénéfique pour le traitement des candidoses chez les sujets infectés par le VIH. Par ailleurs, des études plus approfondies par chromatographie et spectroscopie permettront de purifier le principe actif des extraits de *Erythrina senegalensis* afin de donner de meilleurs résultats et de connaître sa nature chimique.

5. Bibliographie

- [1]. Perfect J.R., Dismukes W.E., Dromer F., Goldman D.L., Graybill J.R., Hamill R.J., Harrison T.S., Larsen R.A., Lortholary O., Nguyen M. Clinical Practice Guidelines for the Management of Cryptococcal Disease: 2010 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*, 2010; 50(3): 291-322.
- [2]. Aoussi E.F., Ehui E., Dembélé J.P., Kolia-Diafouka P., Elloh N.F., Ouattara S.I., Tanon K.A., Doumbia A., Adou-Bryn K.D., Eholié S.P. Cryptococcal Meningitis and HIV in the Era of HAART in Côte d'Ivoire. *Medecine et Maladies Infectieuses*, 2012; 42(8): 349-54.
- [3]. Guillot J. et Dannaoui E. La résistance aux antifongiques : importance en médecine humaine et vétérinaire. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, 2016; (4): 314.
- [4]. Wanjala C.C., Juma B.F., Bojase G., Gashe B.A., Majinda R.R. Erythrinaline Alkaloids and Antimicrobial Flavonoids from *Erythrina latissima*. *Planta Medica*, 2002; 68(7): 640-2.
- [5]. Togola A., Austarheim I., Theis A., Diallo D., Paulsen B. Ethnopharmacological Uses of *Erythrina senegalensis*: A Comparison of Three Areas in Mali, and a Link between Traditional Knowledge and Modern Biological Science. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 2008; 4(1): 6.
- [6]. Ackah J.A.A.B., Oussou K.R., Angaman D.M., Dongui B.K., Djaman A.J. Activité antimycosique et screening phytochimique des différents extraits de *Terminalia catappa* linne un antifongique de source naturelle. *Journal de la Société OuestrAfricaine de Chimie*, 2016; 042: 36- 42
- [7]. Harborne J. B. Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis. *Chapman and Hall*, 1998, 3rd ed.
- [8]. Traoré Y., Ouattara K., Yéo D., Doumbia I., Coulibaly A. Recherche des activités antifongique et antibactérienne des feuilles d'*Annona senegalensis* Pers.(Annonaceae). *Journal of Applied Biosciences*, 2012; 58: 4234–42.
- [9]. Orsot B.A.M., Soro S., Konkon N.G., Kone D., Zirih G.N. Étude ethnobotanique et évaluation *in vitro* de l'activité antifongique des extraits de l'écorce de *Zanthoxylum gillettii* (de Wild Waterman) sur deux souches phytopathogènes de *Sclerotium rolfsii*. *Journal of Applied Biosciences*, 2016; 98(0): 9309.
- [10]. Goly C., Soro Y., Kassi B., Dadié A., Soro S., Dje M. Antifungal activities of the essential oil extracted from the tea of savanna (*Lippia multiflora*) in Côte d'Ivoire. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 2015; 9(1): 24.
- [11]. Biyiti L.F., Meko'o D.J.L., Tamzc V.et Amvam ZPH. Recherche de l'activité antibactérienne de quatre plantes médicinales camerounaises. *Pharmacopée et Médecine Traditionnelle Africaine*, 2004; 13:11-20
- [12]. Ziouti A., El Modafar C., Fleuriet A., EL Boustani S., Macheix J.J. Phenolic Compounds in Date Palm Cultivars Sensitive and Resistant To *Fusarium oxysporum*. *Biologia Plantarum*, 1996; 38(3): 451-7.
- [13]. Ligor M., Ratiu I., Kielbasa A., Al-Suod H., Buszewski B. Extraction Approaches Used for the Determination of Biologically Active Compounds (Cyclitols, Polyphenols and Saponins) Isolated from Plant Material. *Electrophoresis*, 2018; 39(15): 1860-74.
- [14]. Owoseni A.A., Ayanbamiji T. A., Ajayi Y.O., Ewegbenro I.B. Antimicrobial and Phytochemical Analysis of Leaves and Bark Extracts from *Bridelia ferruginea*. *African Journal of Biotechnology*, 2010; 9(7): 1031-6.
- [15]. Hammer K.A., Carson C.F., Riley T.V. Antifungal Activity of the Components of *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil. *Journal of Applied Microbiology*, 2003; 95(4): 853-60.
- [16]. Hajoui F.Z., Ghfir B., Moustachi A., Lyagoubi M., Aoufi S. Intestinal cryptococcosis: an unusual presentation of disseminated cryptococcosis. *Médecine et Santé Tropicales*, 2014; (3): 317–9.

Formulation de pommade antiseptique à base d'extrait éthanolique de feuilles de *Jatropha multifida* récoltées au Bénin.

Koudoro Yaya Alain^{1,2}, Botezatu Dediu Andreea², Anna Cazanevscaia², Olaye Théophile¹, Agbangnan Dossa Cokou Pascal¹, Alitonou Guy Alain¹, Avlessi Félicien¹, Dinica Rodica Mihaela² et Sohounhloué C. K Dominique¹

1-Laboratoire d'Etude et de Recherche en Chimie Appliquée/ Université d'Abomey-Calavi, Benin; 01 BP 2009.
2-Dunărea de Jos" University of Galati, Romania; 111, Galali, 800201;

Résumé: La santé de la peau demeure toujours un problème d'actualité et de santé publique dans un contexte où la peau est soumise à de nombreuses agressions extérieures. Dans la recherche de nouvelles substances bioactives contre les maladies cutanées, la formulation de pommade à base d'extraits de plantes médicinales de la flore béninoise devient nécessaire. Ce travail vise l'élaboration de pommade à partir d'extrait éthanolique de *Jatropha multifida* avec des excipients judicieusement choisis pour traiter les affections de la peau. Les métabolites secondaires de *Jatropha multifida* ont été déterminés par les réactions de coloration et de précipitation spécifique à chaque métabolite secondaire. Les teneurs en composés phénoliques totaux ont été déterminées par le spectrophotomètre. L'activité antiradicalaire par la méthode au DPPH. La pommade élaborée a été caractérisée aux plans organoleptique et physico-chimique. D'après les résultats obtenus, les feuilles de *Jatropha multifida* contiennent de tanins, flavonoïdes, alcaloïdes, saponosides, coumarines, stéroïdes et terpènes. Les teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes totaux et en tanins sont respectivement de (11,44±0,94)µgEAG/mgMS, (58,22±0,15) µg EQ/mgMS et (1,089±0,007)µgEC/mgMS. L'extrait éthanolique de *Jatropha multifida* a montré des activités antiradicalaire et anti-inflammatoire intéressantes. La pommade formulée est de couleur blanche cassée et d'odeur de beurre de karité atténuée avec une consistance molle. Son point de fusion varie entre 35°C à 50°C avec un pH de 6, 05.

Mots-clés: *Jatropha multifida*, métabolites, antiradicalaire, anti-inflammatoire, pommade,

Introduction

La santé de la peau demeure toujours un problème d'actualité et de santé publique dans un contexte où la peau est soumise aux agressions extérieures (Koffi *et al.*, 2018). Les affections cutanées entre autres les mycoses, vergetures, eczéma, acné et le vieillissement d'origine multifactorielle sont des problèmes importants de la peau (Koffi *et al.*, 2018). Dans le monde et dans les pays tropicaux, elles représentent 30% des consultations en milieu rural (Basset *et al.*, 1999). Le stress oxydant est l'une des principales causes aggravantes de ces affections (Favier, 2013). Le Bénin n'est épargné, dans la mesure où près de 2,1% de la population ont des problèmes cutanés (Ministère de santé; 2016). Dans certains pays, elles occupent la 3^{ème} place après les principales maladies telles que le paludisme et les affections respiratoires (Pitche et Tchangai-Walla, 2000). Les antibiotiques qui sont largement utilisés pour traiter les maladies dermatose sont constamment menacés à cause de l'émergence de pathogènes multirésistants (Cohen, 2000; Guessenn, 2013). *Jatropha multifida* fait partie des plantes dont les organes sont fortement sollicités pour traiter les affections de la peau. Sa sève est largement utilisée pour la cicatrisation des blessures. Il serait plus efficace que la nystatine et il aurait l'avantage d'agir plus vite en petite dose (Adesola et Adetunji, 2007). Les travaux de Kosasi *et al.*(1989) ont montré que le latex de *Jatropha multifida* a une activité inhibitrice. Les travaux de Kokou *et al.*,(2016) ont rapporté que l'extrait éthanolique de feuilles de *Jatropha multifida* possède une activité antimicrobienne. Pour parvenir à une amélioration de la médecine africaine, plusieurs investigations phytochimiques ont été faites, afin d'apporter une justification scientifique quant à l'utilisation traditionnelle des plantes médicinales. Cette étude vise la valorisation de *Jatropha multifida* à travers l'élaboration d'une pommade antiseptique pour traiter les affections de la peau.

Matériel et méthodes

Matériel

Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de feuilles de *Jatropha multifida* récoltée à Abomey-Calavi (Bénin).

Matériel bactérien

Il est essentiellement constitué des souches de référence de *Staphylococcus aureus* (ATCC27844), *Escherichia coli* (O157:H7), *Salmonella typhi* (R.30951401) et *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 35657).

Matériel de formulation

Le matériel pour la formulation est constitué essentiellement de cire d'abeille, de vaseline, du glycérol et d'extrait de *Jatropha multifida*.

Méthodes

Prétraitement d'échantillon de feuilles de *Jatropha multifida*

L'échantillon de feuilles de *Jatropha multifida* après sa récolte a été séché à la température du laboratoire jusqu'à la stabilisation de sa masse avant d'être pulvérisées à l'aide d'un broyeur électrique.

Identification des métabolites secondaires

Identification des métabolites

Les différents groupes chimiques ont été identifiés en se référant aux techniques décrites dans les travaux antérieurs (Bruneton, 1999; Békro et al, 2007, Koudoro *et al.*, 2019). La mise en évidence des métabolites tels que les saponosides, les tanins, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les coumarines, les quinones, les anthocyanes, les leuco-anthocyanes, les protéines, les composés réducteurs, les anthraquinones, les mucilages, les terpènes et les stérols a été faite par des réactions de coloration et de précipitation spécifiques à chaque famille de métabolite secondaire. La recherche des tanins cathéchiques a été possible grâce au réactif de Stiasny et à l'acétate de sodium. Pour la caractérisation des tanins galliques, nous avons employé le réactif de Stiasny, l'acétate de sodium et du chlorure ferrique. L'anhydride acétique et l'acide sulfurique concentré ont été nécessaires à la recherche des stérols et polyterpènes. L'alcool chlorhydrique, les copeaux de magnésium et l'alcool isoamylique ont été utilisés pour rechercher les flavonoïdes. Le chlorure ferrique à 1% a permis l'identification des phénols. Le réactif de Bornstraëgen, le chloroforme, l'ammoniaque et l'acide chlorhydrique ont permis de rechercher les substances quinoniques. L'identification des alcaloïdes a été faite par le réactif de Burchard (réactif iodo-ioduré) et du réactif de Dragendorff (réactif à l'iodobismuthate de potassium). Les stérols et les polyterpènes ont été recherchés par la réaction de Liebermann. Les flavonoïdes ont été recherchés par la réaction à la cyanidine.

Teneur en composés phénoliques

➤ Phénols Totaux

La teneur phénol a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu. Cette méthode consistait à utiliser un mélange d'acides phosphotungstique et phosphomolybdique, qui est réduit lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène. Enfin, l'absorbance a été mesurée à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (microplaque Infinite 200 PRO-Tecan) et les teneurs totales en phénols sont exprimées en microgrammes d'équivalent acide gallique par milligramme de matière sèche ($\mu\text{gEAG}/\text{mgMS}$) (Lupoae *et al.*, 2015; Singleton *et al.*, 1999; Mbacke *et al.*, 2017).

➤ Flavonoïdes totaux

La méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl_3) a été utilisée pour quantifier la teneur en flavonoïde. Cette technique est basée sur la formation de flavonoïdes complexes d'aluminium. L'absorbance a été lue à 415 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (microplaque Infinite 200 PRO-Tecan) et la teneur en flavonoïdes est exprimée en microgramme équivalence de quercétine par milligramme de matière sèche ($\mu\text{gEQ}/\text{mgMS}$) (Djeridane *et al.*, 2006).

Teneur en tanins condensés

La méthode à la vanilline chlorhydrique a été utilisée pour déterminer la teneur en tanins condensés. L'absorbance a été mesurée à 500 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (microplaque Infinite 200 PRO-Tecan) et la teneur en tanin a été exprimée en microgramme équivalence de catéchine par milligramme de matière sèche ($\mu\text{gEC}/\text{mgMS}$) (Heimler *et al.*, 2006).

Activités biologiques

• Antiradicalaire

100 μL d'extrait éthanolique de feuilles de *Jatropha multifida* ont été ajoutés dans les cinq puits des deux premières lignes de microplaques à 96 puits. Puis une dilution progressive de raison deux a été réalisée en commençant par la deuxième ligne avec du méthanol jusqu'à la dernière ligne (8^{ème} ligne) où 100 μL de dilution ont été rejetés. Dans les trois premiers puits de chaque rangée, 100 μL de la solution méthanolique de DPPH (0,1mg/mL) ont été ajoutés et 100 μL de méthanol dans l'autre, deux puits de

chaque rangée pour préparer le contrôle négatif. Le contrôle positif est préparé en parallèle en mélangeant 100µL de méthanol avec 100µL de la solution DPPH. Après incubation à l'obscurité à la température, l'absorbance a été mesurée après 15 minutes pendant une heure à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (microplaque Infinite 200 PRO-Tecan) (Qwele *et al.*, 2013).

- **Antimicrobienne -**

100 µL de bouillon MH ont été distribués préalablement dans tous les puits d'une microplaque de 96 puits. 100 µL des solutions mères de savons à 200 mg/mL ont été ajoutés dans les premiers et deuxièmes puits. A partir des deuxièmes puits, des dilutions successives au demi ont été faites jusqu'aux derniers puits. Ensuite, 100 µL de bouillon bactérien concentré à 10⁶ UFC/mL ont été ajoutés dans tous les puits. Après vingt heures d'incubation à 37°C, 40 µL d'une solution aqueuse d'iodonitrotétrazolium (SIGMA-ALDRICH) concentrée à 0,2 mg/mL ont été ajoutés à chaque puits. L'apparition d'une coloration au niveau des puits indique la croissance bactérienne. La CMI est déterminée en regardant la plus petite concentration pour laquelle la couleur du puits ne vire pas au rouge après ajout d'iodonitrotétrazolium

- **Anti-inflammatoire**

L'activité anti-inflammatoire a été évaluée par la détermination du potentiel de stabilisation de la membrane des globules rouges. Pour cela, 100 µL du sang humain frais ont été mélangés avec 900 µL de solution de chlorure de sodium (0,9%) puis centrifugés à 8000 tr/min pendant 10 min. Ensuite, 300µL de surnageant ont été ajoutés à 300µL d'extrait et agiter pendant 30 min. Pour le contrôle négatif, 300 µL de la solution de chlorure de sodium a été mélangé avec 300µL de surnageant. L'aspirine a été utilisée comme composé de référence en mélangeant 300 µL d'aspirine (20 mg/mL) et 300 µL du méthanol. Les échantillons ont été incubés à 56°C pendant 30 min, centrifugé à 2500 tr/min pendant 5 min et l'absorbance du surnageant a été mesurée à 560 nm. Le pourcentage de stabilisation de la membrane de globule rouge a été calculé (Sadique *et al.*, 1989; Shinde et al., 1999; Oyedepo *et al.*, 1995).

Préparation de pommade

Pour la préparation de pommade, l'extrait éthanolique de *Jatropha multifida* a été utilisé comme principe actif. Compte tenu de l'aspect collant de cet extrait, une quantité d'extrait a été d'abord dissoute dans un volume de solvant d'extraction afin de faciliter la préparation. Le beurre de karité, la glycérine, la vaseline et la cire d'abeille ont été utilisés comme excipients.

Propriétés organoleptiques de pommade élaborée

Les propriétés organoleptiques de pommade, telles que la couleur, l'odeur caractéristique, la solubilité, la stabilité, l'aspect et l'homogénéité de la formulation ont été examinés à l'œil nu

Paramètres physicochimiques des pommades élaborées.

Le point de fusion, le pH, l'homogénéité, l'indice d'acidité et l'indice de peroxyde ont été déterminés.

Résultats et discussion

Le tableau 1 indique les métabolites de feuilles de *Jatropha multifida*. Les feuilles de *Jatropha multifida* contiennent des tanins cathéchiques, des flavonoïdes, des leuco anthocyanes, des composés réducteurs, des mucilages, des coumarines, des alcaloïdes, des saponosides des stérols et terpènes alors que Hirota *et al.* (2012) ont mis en évidence dans les feuilles de la même plante récoltée au Brésil, la présence des coumarines, des stéroïdes, des triterpènes, des hétérosides, des tanins, des flavonoïdes ainsi que des anthocyanes. L'absence des alcaloïdes, des composés réducteurs, des mucilages dans les échantillons du Brésil pourrait être due à la nature du sol, le lieu de récolte ainsi que la période de récolte (Daddona *et al.*, 1976; Manolaraki, 2011).

Tableau1: Métabolites de feuilles de *Jatropha multifida*

Métabolites de <i>Jatropha multifida</i>	Présence/Absence
alcaloïdes	+
anthocyanes	-
Leuco-anthocyanes	+
Anthraquinones	+
Composés réducteurs	+
Flavonoïdes	+

	Catéchiques	+
Tanins	Galliques	-
Stérols et terpènes		+
Mucilages		+
Saponosides		+
Coumarines		+
Dérivée cyanogénique		-

Légendes: +: présence; -: absent;

Teneur en composés phénoliques d'extrait éthanolique de feuilles de *Jatropha multifida*

Le tableau 2 indique la teneur en composés phénoliques de feuilles de *Jatropha multifida*. Les teneurs en phénols de feuilles de *Jatropha multifida* est de (11,44±0,94) mg EAG/gMS avec une teneur en flavonoïdes de (58,22±0,15) mg EQ/gMS et une teneur en tanins de (1,09±0,01) mg EEC/gMS.

Tableau 2: Teneur en composés phénoliques de l'extrait éthanolique de feuilles de *Jatropha multifida*

Extrait	Teneur en phénols totaux (mgEAG/gMS)	Teneur en flavonoïdes totaux (mg EQ/gMS)	Teneur en tanins totaux (mgEC/gMS)
Ethanolique	11,44±0,94	58,22±0,15	1,09±0,01

Evaluation de l'activité antiradicalaire de l'extrait éthanolique de feuilles de *Jatropha multifida*

La courbe de la figure 1 représente la capacité antiradicalaire exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des concentrations d'extrait éthanolique de feuilles de *Jatropha multifida*. A travers cette courbe on note une augmentation progressive de pourcentage en fonction de l'augmentation de la concentration de l'extrait éthanolique de *Jatropha multifida*. Les concentrations d'extrait éthanolique qui engendre une réduction de 50% du radical libre de DPPH est de 0,010µg/µL. L'activité intéressante de l'extrait de *Jatropha multifida* montre qu'il pourra être utilisé pour lutter contre les attaques radicalaires de la peau et dans la conservation des produits agro-alimentaires périssables.

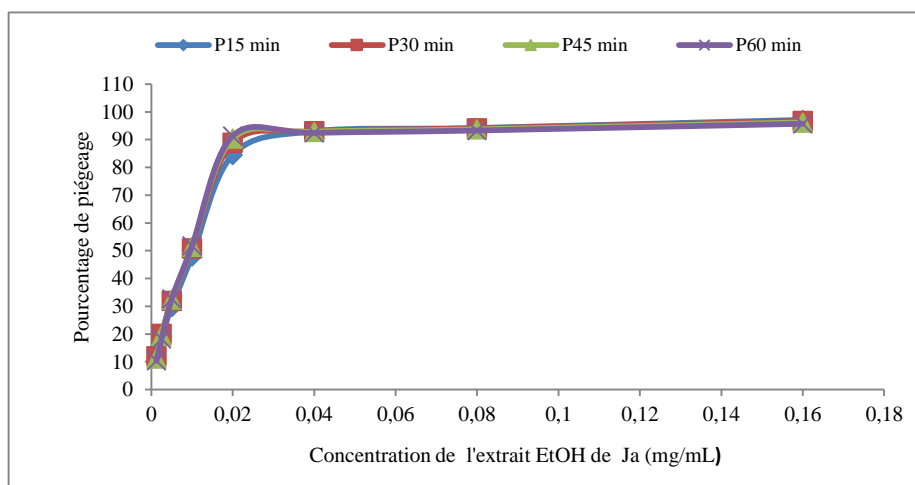


Figure 1: Activité

antiradicalaire de l'extrait éthanolique de feuilles de *Jatropha multifida*

Evaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique *Jatropha multifida*

L'extrait éthanolique de *Jatropha multifida* a inhibé les souches de *Staphylococcus aureus* et de *Staphylococcus epidermidis* à une concentration de 10 mg/mL.

Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait éthanolique de *Jatropha multifida*

Le pourcentage de stabilisation de la membrane des globules rouges par l'extrait éthanolique de *Jatropha multifida* et de l'aspirine sont respectivement de (85,684±0,397)% et (70,125±0,114) %. Il ressort de l'analyse de ce résultat que l'extrait éthanolique de *Jatropha multifida* a une activité anti-inflammatoire plus intéressante que l'aspirine qui est le composé de référence utilisé dans cette étude. Cette activité notée serait liée à la richesse de cette plante en métabolites secondaires, en occurrence les flavonoïdes et les saponosides (Onyenekwe *et al.*, 2014).

Propriétés organoleptiques et caractéristiques physico-chimique du pommade formulée

La pommade formulée est de couleur blanche cassée et d'odeur de beurre de karité atténuée. Elle a une consistance molle. Elle est homogène et insoluble dans l'eau mais soluble dans les solvants organiques. Elle paraît moyennement dure au toucher, mais après l'avoir prise, elle se ramollit aussitôt au contact de la peau. Son point de fusion varie entre 35°C à 50°C avec un pH de 6,05. L'indice d'acidité et de peroxyde sont respectivement de 4,4 et 8,8. La faible valeur de cet indice caractérise la pureté et la stabilité du pommade formulée. La valeur d'indice de peroxyde est inférieure à 10. Ce qui caractérise la plupart des huiles conventionnelles (FAO, 1981). En effet, des valeurs d'indice de peroxyde inférieures à 10 sont généralement considérées comme témoignant d'un niveau d'oxydation acceptable (Rossell, 1993).

Conclusion

Les maladies de la peau constituent un problème majeur de santé publique dans les pays en voie de développement. Ce travail vise la valorisation de *Jatropha multifida* à travers la formulation d'une pommade antiseptique pour traiter les affections de la peau. Pour y parvenir, le screening phytochimique, la quantifier les teneurs en composés phénoliques de l'extrait éthanolique et l'évaluation des activités antiradicalaire antimicrobienne et anti-inflammatoire ont été effectués avant la formulation du pommade antiseptique. Des résultats obtenus, *Jatropha multifida* renferment des métabolites tels que les tanins, les flavonoïdes, les composés réducteurs, les saponosides, les anthraquinones, les stérols et les terpènes..

L'extrait éthanolique de *Jatropha multifida* a montré une activité antiradicalaire intéressante. Cet extrait s'est révélé actif que la plupart des antioxydants de synthèse (butylhydroxytoluène, butylhydroxyanisole et acide ascorbique). *Jatropha multifida* pourrait être utilisée pour lutter contre les attaques radicalaires subies par la peau d'une part et pour la conservation des produits agro-alimentaires périssables d'autre part. L'utilisation de l'extrait de *Jatropha multifida* dans la formulation de la pommade joueront non seulement le rôle de principe actif mais permettront aussi de protéger les lipides contre le rancissement. Concernant l'activité anti-inflammatoire, l'extrait éthanolique de *Jatropha multifida* a montré une activité plus prononcée que celle de l'aspirine qui est un composé de référence. Le présent travail a abouti à la mise au point d'une pommade, un médicament traditionnel amélioré, utilisé pour traiter les affections de la peau. Cette pommade en plus de son action émolliente et protectrice de la peau, réglera le potentiel Hydrogène cutané à la valeur normale. Elle pourrait aussi lutter contre les attaques radicalaires subies par la peau.

Références bibliographiques

1. Adesola A, Adetunji O (2007). Tersedia dalam jurnal Ekstraksi zat aktif antimikroba dari tanaman yodium (*Jatropha Multifida* Linn) sebagai bahan baku alternatif antibiotik alami oleh Sari FM&Sari SM. hal:1.
2. Basset, Y., Charles, E. C. & Novotny, V. 1999. Insect herbivores on parent trees and conspecific seedlings in a rain forest in Guyana. *Selbyana* 20: 146–158.
3. Békro yves-alain, janat a. Mamyrbekova békro , boua b. Boua, , fézan h. Tra bi, & ehouan e. Éhilé. (2007). Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi (*Caesalpinaceae*). *Sciences & Nature*. 4 (2) : 217-225 ;
4. Bruneton J., 1999. Pharmacognosie, Phytochimie et plantes médicinales. Edition Technique et Documentation, 1120 pp.,
5. Cohen, M.L., 2000. Changing patterns of infectious disease". *Nature* 17, pp. 762-767 ;
6. Daddona PE, wright JL, Hutchinson CR. Alkaloid catabolism and mobilization in *Catharanthus roseus*. *Phytochem*. 1976; 15: 941-945.
7. Djeridane, A., Yous, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem*. 97: 654-660;
8. FAO (1981). Codex Alimentarius Commission. Graisses et huiles végétales, division 11, Version abrégée FAO/WHO. Codex Stan, 20-23.
9. Favier A. 2013. Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique* (270) : 108 -115.
10. Guessennd N.K. (2013) Résistance bactérienne aux antibiotiques en Afrique, Observatoire de la résistance des microorganismes aux antis Infectieux en Côte d' Ivoire : ORMICI, 41p.
11. Heimler, D., Vignolini, P., Giulia, M., Francesco, V.F., Rmani, A., (2006). Antiradical activity and polyphenol composition of local Brassicaceae edible varieties. *Food Chemistry*, 99: pp: 464-469;

12. Koffi Akessé Georges, Ahoua Angora Remi Constant, Ekou Lynda, Ekou Tchirioua, Kone Mamidou Witabouna (2018). Activité antioxydante de quelques plantes utilisées dans la région de Tiassalé (Côte d'Ivoire) dans le maintien de la santé de la peau. *European Scientific Journal*. 14 (30) : p. 1857-7881 ;
13. Kokou A, Adjrah Y, Amééyapoh Y, Damintoti Karou S, Agbonon A, de Souza C, Gbeassor M (2016) Activité antimicrobienne, anti-inflammatoire et antioxydantes de *Jatropha multifida* L. (Euphorbiaceae) *Pharmacognosie Res* 8(2) ; p : 142-146 ;
14. Kosasi S, Hart LA, H. Van DIJK H, Labadie RP (1989). Inhibitory activity of *Jatropha multifida* latex on classical complement pathway activity in human serum mediated by a calcium-binding proanthocyanidin. *Journal of Ethnopharmacology* 27(1) Pp : 81-89;
15. Koudoro Yaya Alain, Bogninou G. Sophie Reine, Bossou Annick Flore Arlette Dohoué, Agbangnan Dossa Cokou Pascal, Olayé Théophile, Bothon F. T. Diane, Alitonou Guy Alain, Avlessi Félicien and Sohounhlou Dominique (2019). Métabolites secondaires, activités antibactérienne et antiradicalaire des extraits de l'écorce de tronc de acacia polyacantha récoltée au Bénin. *Int. J. Adv. Res.* 7(10), 1087-1092 ;
16. Lupoae P., Cristea V., Borda D., Lupoae M., Gurau G. and Dinica R. M. (2015). Phytochemical Screening: Antioxidant and Antibacterial Properties of Potamogeton Species in Order to Obtain Valuable Feed Additives. *Journal of Oleo Science*, pp : 1-13;
17. Manolaraki F. Propriétés anthelmintiques du sainfoin (*Onobrychis viciifoliae*). Analyse des facteurs de variations et du rôle des composés phénoliques impliqués. Thèse de Doctorat de l'université de Toulouse III, Toulouse. 2011.
18. Mbacke D.I.S, Fall A.D, Diatta-Badji K., Sarr A, Madieye S., Moussa S., Mbaye A, Diatta W et Bassene E. (2017). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits hydro-ethanoliques des feuilles et écorces de *Piliostigma thonningii* Schumach. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 11(2): 768-776,
19. Onyenekwe, P. C., Ogbadu Godwin, H., Omotoye, O., Rebecca, W., Olayanju, S. (2014). Evaluating the Nutritional Potential of *Acacia Sieberiana* Seeds (Dc) Growing In North West of Journal of Nigeria. *Biology and Life Science*. 5(2), pp:25-36 ;
20. Oyedepo O.O, Femurewas A.J. (1995). Anti-protease and membrane stabilizing activities of extracts of *Fagra zanthoxiloides*, *Oxalis subscorpioides* and *Tetrapleura tetraptera*. In. *J. Pharm.*, 33: 65-69;
21. Pitche P et Tchangai-Walla K (2000). La dermatologie en Afrique Noire. Quelles perspectives pour le 21^{ème} siècle. *Les Nouvelles dermatol*; 19 (1), Pp : 44-47.
22. Qwele K, Muchenje V, Oyedemi SO, Moyo B, Masika PJ. Effect of dietary mixtures of moringa (*Moringa oleifera*) leaves, broiler finisher and crushed maize on anti-oxidative potential and physico-chemical characteristics of breast meat from broilers. *African Journal of Biotechnology*. 2013; 12(3): 290-298.
23. Sadique J, Al-Rqobahs WA, Bughaith EI-Gindi Ar (1989). The bioactivity of certain medicinal plants on the stabilization of RBS membrane system. *Fitoterapia*, 60:525-532 ;
24. Shinde U.A, Phadke A.S, Nari A.M, Mungantiwar A.A, Dikshit VJ, Saraf M.N (1999). Membrane stabilization activity a possible mechanism of action for the anti-inflammatory activity of *Cedrus deodara* wood oil. *Fitoterapia*, 70: 251-257;
25. Shinde UA, Phadke AS, Nari AM, Mungantiwar AA, Dikshit VJ, Saraf MN. Membrane stabilization activity a possible mechanism of action for the anti-inflammatory activity of *Cedrus deodara* wood oil. *Fitoterapia*. 1999; 70: 251-257.
26. Singleton, V.L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu phenol reagent. *Methods in Enzymology* 299: 152-179;
27. T. Hirota, J.W. Lee, P.C. St John, M. Sawa, K. Iwaisako, T. Noguchi, P.Y. Pongsawakul, T. Sonntag, D.K. Welsh, D.A. Brenner. (2012) Identification of small molecule activators of cryptochrome. *Science*, 337; pp. 1094-1097.

Phytonutriments et potentiel antibactérien de l'extrait hydro-éthanolique des cosses de fruits de *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth

Bothon Fifa T. Diane^{1,2*}, Atindehou Mènonvè³, Koudoro Yaya A², Dedjiho C. Camille² Agbangnan Dossa C. Pascal², Avlessi Félicien²

¹Laboratoire Kaba de Recherche en Chimie et Applications; Institut National Supérieur de Technologie Industrielle, Université Nationale des Sciences, Technologies Ingénierie et Mathématiques Bénin

²Laboratoire d'Etude et de Recherche en Chimie appliquée, Ecole Polytechnique d'Abomey Calavi, Université d'Abomey-Calavi, 01 BP 2009 Cotonou, Bénin

³Unité de Biochimie et de Biologie Moléculaire, Laboratoire de Biochimie et Substances Naturelles Bioactives. Faculté des Sciences et Techniques, Université D'Abomey-Calavi, Bénin

Résumé

Plus connues pour leur rôle dans la fabrication des écomatériaux en construction, les cosses des fruits de *Parkia biglobosa* sont aussi utilisées en médecine traditionnelle. La présente étude s'intéresse aux constituants chimiques et aux activités antibactériennes de l'extrait semi-éthanolique des cosses de *P. biglobosa*. Elle a consisté à : d'une part, déterminer la teneur en minéraux par la spectroscopie d'absorption atomique de flamme, révéler les classes de métabolites secondaires qu'il contient par des tests de coloration et/ou de précipitation et d'autre part à déterminer pour 2 souches Gram (+) et 2 Gram (-) les CMI par microdilution et les CMB sur milieu solide gélosé. Les résultats montrent que les cosses contiennent 1,23% de Potassium, 0,65% d'Azote 0,23% de Calcium et 0,12% de Magnésium. Tannins catéchiques, anthocyanes, leucoanthocyanes, anthraquinones, saponines, composés réducteurs, stérols et terpènes y ont été révélés. L'extrait hydro-éthanolique des cosses de *P. biglobosa* a une activité inhibitrice avec une CMI de 1,25 mg/ml sur *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*, et de 2,5 mg/ml sur *Enterococcus faecalis* et *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (MRSA). L'évaluation d'autres propriétés et de la toxicité aiguë et subaiguë de cet extrait seraient intéressantes.

Mots clés: *Parkia biglobosa*, cosses, constituants, antibactérien.

Phytonutrients and antibacterial potential of hydro-ethanolic extract of *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth fruit husk

Abstract

Known for their role in the manufacture of eco-materials in buildings, *Parkia biglobosa* fruit husks are also used in folk medicine. The present study focuses on chemical constituents and antibacterial activities of the semi-ethanolic extract of *P. biglobosa* husk. It consisted of : on the one hand determining the mineral content by flame atomic absorption spectroscopy, revealing classes of secondary metabolites it contains by staining and/or precipitation tests, and on the other hand, determining for 2 strains Gram (-) and 2 Gram (+) the MICs by microdilution and the MBCs on solid agar plates. Results showed that husks contain 1.23% Potassium, 0.65% Nitrogen, 0.23% Calcium and 0.12% Magnesium. Catechic tannins, anthocyanins, leuco-anthocyanins, anthraquinones, saponins, reducing compounds, sterols and terpenes were found present. Hydro-ethanolic extract of *P. biglobosa* fruit husk has inhibitory activity with a MIC of 1.25 mg/ml on *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*, 2.5 mg/ml on *Enterococcus faecalis* Methicillin-resistant and *Staphylococcus aureus*. Evaluation of other properties and acute and subacute toxicity of the extract would be interesting

Keywords: *Parkia biglobosa*, husks, constituents, antimicrobial.

1. Introduction

Encore appelé "néré", *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth ou *Parkia clappertoniana* Keay est un arbre allant jusqu'à 30 m de haut, d'inflorescence globuleuse rouge; donc les fruits sont à gousses variables et plats contenant des grains. Il est rencontré dans les forêts de galerie en Afrique tropicale, surtout centrale et de l'Est^[1]. Les différentes parties (feuilles, écorces, racines) de *P. biglobosa* sont connues pour leurs diverses propriétés biologiques: anti-inflammatoire, antibactérien, antidiabétique, anti diarrhéique, antihypertensifs, anti ucérique^{[2],[3]}. Les graines sont utilisées par fermentation pour la fabrication de condiments tels que *afintin* et *sonru* au Bénin^[4]; *Iru* et *dawadawa* au Nigeria^[5]; *Soumbala* au Burkina Faso^[6]. La pulpe des fruits est connue pour sa richesse en nutriments et en minéraux^{[7],[8]}. En ce qui concerne les cosses des fruits, elles sont connues comme un biopesticide^{[9],[10]}. En décoction, elles sont

utilisées traditionnellement en Afrique de l'Ouest dans les constructions en latérite ; elles jouent le rôle d'agent de liaison et confèrent à la construction une durabilité et une résistance et imperméabilité^{[11],[12],[13]}. Bien que les cosses entrent dans la préparation de certaines recettes en médecine traditionnelle, il existe très peu de travaux scientifiques sur leur composition et leurs potentiels thérapeutiques^{[14],[15],[16]}. Afin de mettre en valeur les vertus des cosses des fruits de cette plante, très connue et très importante en Afrique de l'Ouest, le présent travail exploratoire a été mené.

2. Matériel et Méthodes

2.1. Matériel végétal

Les fruits de *Parkia biglobosa* ont été collectés en avril 2018 à Parakou. Les cosses ont été récupérées et séchées à température ambiante en laboratoire et réduites en poudre.

2.2. Souches bactériennes

Les souches bactériennes utilisées ont été fournies par le Laboratoire de Biochimie et Substances Naturelles Bioactives de l'université d'Abomey-Calavi (Bénin). Il s'agit de deux Gram négatifs : *Escherichia coli* (ATCC 25922) et *Pseudomonas aeruginosa* (CIP 82118), et deux Gram positifs : *Enterococcus faecalis* (ATCC 25212), *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline.

2.3. Extraction

Dix grammes (10 g) de poudre de cosses de *Parkia biglobosa* ont été extraits par macération sous agitation dans 100 ml d'éthanol-eau (50/50) pendant 24 heures. Après filtration sur Buchner, le filtrat a été concentré à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif, le rendement calculé, puis stocké à 4°C pour une utilisation ultérieure.

2.4. Détermination de la teneur en minéraux

La teneur en minéraux a été déterminée sur les cendres des cosses des fruits de *P. biglobosa*. Les cendres ont été digérées pendant 30 min dans un mélange d'acide nitrique 1M et d'acide chlorhydrique 3N. Les filtrats obtenus ont été utilisés pour déterminer la teneur en minéraux, conformément à la méthode décrite par les normes NF EN 14082 et ISO 15587-2 utilisant la spectroscopie d'absorption atomique (VARIANT avec spectres A110 logiciel).

2.5. Détermination des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires (Tannins catéchiques, anthocyanes, leucoanthocyanes, anthraquinones, saponines, composés réducteurs, stérols et terpènes) ont été recherchés grâce à des tests colorimétriques ou de précipitation suivant les méthodes utilisées^[17].

2.6. Tests microbiologiques

Le potentiel antimicrobien de l'extrait hydro-éthanolique des cosses a été évalué à travers la détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et la Concentration Minimale Bactéricide (CMB). Les tests ont été faits en microplaques selon la méthode utilisée par^[18]. A partir de 20 mg d'extrait de plantes, la solution mère est préparée à 20 mg/ml en ajoutant 100 µl d'acétone et 900 µl d'eau stérile. Les dilutions se font dans le MHB pour préparer une gamme de concentration à tester est de 10; 5; 2,5; 1,25; 0,625...mg/ml. La CMI est déterminée à partir d'une pré-culture en phase exponentielle de croissance, une suspension bactérienne à 0,001 à DO₆₂₀ nm est préparée. Dans chaque puits, on met 100 µl de la suspension bactérienne et 100 µl de la solution d'extraits. Le témoin de culture, le témoin contrôle du solvant (10% d'acétone), le témoin négatif avec des antibiotiques usuels sont réalisés en parallèle. La concentration minimale inhibitrice est déterminée par l'utilisation de l'iodonitrotétrazolium. La CMB a été déterminée sur milieu gélosé sont placées à 37 ° C pendant 24 heures, à partir des puits qui n'ont montré aucune croissance lors de la détermination de la CMI.

3. Résultats et discussion

3.1. Le rendement

Après plusieurs extractions le rendement obtenu est de 33,11 ± 1,33g.

3.2. Profile en phytonutriments des cosses des fruits de *P. biglobosa*

Les minéraux sont des nutriments essentiels dont le corps humain a besoin en petites quantités pour son bon fonctionnement. La teneur en nutriments des cosses des fruits de *P. biglobosa* est présentée dans le tableau 1.

Tableau 1: **Teneur en minéraux des cosses de *P. biglobosa***

Minéraux	Pourcentage
Azote	0,65
Calcium	0,23
Potassium	1,23
Sodium	0,05
Fer	0,06
Manganèse	0,003
Magnésium	0,12

Les minéraux les plus présents sont: le potassium (1,23%), l'azote (0,65%), le calcium (0,23%) et le magnésium (0,12%).

Une alimentation riche en potassium réduit le risque d'hypertension^[19]. Selon l'Agence Nationale Sécurité Sanitaire Alimentaire Travail, le calcium a fonction bien connue, celle d'édification et de renouvellement du squelette. Le magnésium est un régulateur du métabolisme glucidique et lipidique des tissus musculaires, cardiaques et nerveux. Dans l'organisme, le fer joue un rôle majeur constituant dans la fabrication et le fonctionnement de l'hémoglobine, mais il est faiblement présent dans les cosses des fruits de *P. biglobosa*.

Tableau 2: **Profile en métabolites secondaires des cosses de fruits**

Métabolites secondaires	Résultat	
Alcaloïdes	-	
Flavonoïdes	-	
Tannins	Catéchique	+
	gallique	-
Anthocyanes	+	
Leucoanthocyanes	+	
Anthraquinones	+	
Mucilages	-	
Saponosides	+	
Coumarines	-	
Quinones	-	
Composés réducteurs	+	
Dérivés cyanogéniques	-	
Stérols et terpènes	+	

+ Révélé - Non révélé

Les métabolites secondaires connus dans les cosses de fruits sont présentés dans le tableau 2. Contrairement à la présente étude, d'autres ont montré la présence de flavonoïdes et l'absence de stérols et de terpènes^{[15], [20]}. Cette différence pourrait être due à la diversité des facteurs écologiques et édaphiques des sites de récolte.

3.3. Potentiel antibactérien des extraits des cosses des fruits de *P. biglobosa*

La résistance aux antibiotiques est due de leur utilisation prolongée ; elle est désormais une préoccupation mondiale et constitue une crise sanitaire mondiale^[21]. De nombreux agents pathogènes multirésistants existent et sont responsables de plusieurs maladies. *Pseudomonas aeruginosa* est responsable d'infections diverses (pulmonaires, urinaires, cutanées, etc.). Cette bactérie est devenue plus résistante aux antibiotiques. L'Organisation mondiale de la santé l'a classé comme un pathogène prioritaire, contre lequel il est urgent de découvrir de nouveaux traitements^[22]. L'infection urinaire est une pathologie fréquemment rencontrée dans les pratiques hospitalières, *Escherichia coli* est l'espèce bactérienne principale impliquée dans cette infection^{[23][24]}. *Enterococcus faecalis* est un agent

pathogène opportuniste devenu une cause majeure d'infections nosocomiales dans le monde entier ; de nombreuses souches cliniques sont en effet résistantes aux antibiotiques *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline est une bactérie qui devient de plus en plus dangereuse pour la santé humaine en raison de son mode de transmission facile et du fait qu'il conduit à des complications difficiles à traiter [25].

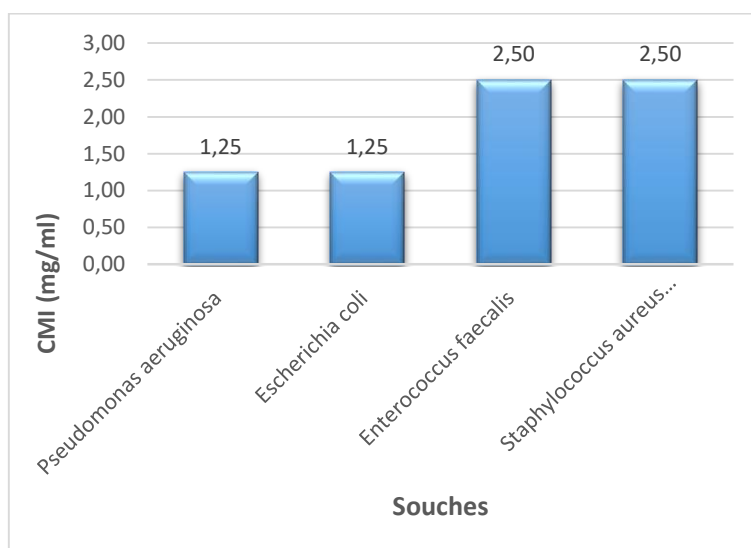


Figure 1: CMI de l'extrait hydro-éthanolique des cosses des fruits de *P. biglobosa*

Malgré la détermination l'activité inhibitrice de l'extrait hydro-éthanolique (Figure 1), les CMB n'ont pas pu être déterminés aux concentrations testées. Bien que pas très riches en métabolites secondaires, la présence de saponosides^[27] et des tannins^[28] pourraient justifier l'activité inhibitrice de l'extrait étudié. Contrairement aux travaux de Salit et al, (2021) [20] sur l'extrait méthanolique des cosses qui ne contiennent que des carbohydrates, les saponosides, les flavonoïdes, les terpènes, les stérols et les glycosides cardiotonique et n'a pas montré d'activité inhibitrice sur *E. coli* et les autres souches qu'ils ont testées. Les tests microbiologiques montrent que les Gram négatifs (*E. coli* et *P. aeruginosa*) ont été plus sensibles à l'extrait que les Gram positifs (*E. faecalis* et *S. aureus* résistant). Cette différence pourrait être justifiée par le fait que les parois des bactéries Gram positives sont constituées de plusieurs couches de peptidoglycane tandis que celle des Gram négatifs n'est formée que d'une seule couche.

4. Conclusion

Au vu de son potentiel antibactérien, l'extrait hydro-éthanolique des cosses des fruits *Parkia biglobosa* pourrait être une nouvelle source de développement de médicaments traditionnels améliorés pour la population africaine.

Références

- [1] A. Akoègninou, W. J. Van der Burg., L. J. G. Van der Maesen, Flore analytique du Bénin 2006. Many line drawings. XXII, 1034 p. grovo. Hardcover
- [2] V. Fifamè Grâce Nadège et al., "A review on medicinal plants of *Parkia Biglobosa* (Mimosaceae -Fabaceae) and *Pterocarpus Erinaceus* (Leguminosae – Papilionoidea)," *J. Med. Plants Stud. JMPS*, vol. 132, no. 46, pp. 132–137, 2016.
- [3] "W. G. Balogu, I. A. Abeyayo, Usman Y. Azman " A review of the phytochemistry and medicinal activities of the popular african food additive: *Parkia biglobosa* seed" *Oriental pharmacy and Experimental Medicine* 2018.
- [4] P. Azokpota, D. J. Hounhouigan, and M. C. Nago, "Microbiological and chemical changes during the fermentation of African locust bean (*Parkia biglobosa*) to produce afitin, iru and sonru, three traditional condiments produced in Benin," *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 107, no. 3, pp. 304–309, 2006.
- [5] M. E. Ojewumi, and Omoleye, James and Ajayi, A. A., The Study of the Effect of Moisture Content on the Biochemical Deterioration of Stored Fermented *Parkia Biglobosa* Seeds. *Open Journal of Engineering Research and Technology*, 1 (1). pp. 14-22, 2016.
- [6] C. S. Compaoré, F. W. Tapsoba, C. Parkouda, D. Tamboura, E. M.A. Traoré, B. Diawara, A. Savadogo, L. Jespersen and H. Sawadogo-Lingan, Development of starter cultures carrier for the production of high quality soubala, a food condiment based on *Parkia biglobosa* seeds. *African journal of biotechnology* vol. 19(11),

pp.820-828, 2020

- [7] C. Termote, N. O. Odongo, B. S. Dreyer, B. Guissou, C. Parkouda, and B. Vinceti, "Nutrient composition of *Parkia biglobosa* pulp, raw and fermented seeds: a systematic review," *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 62, no. 1, pp. 119–144, 2022.
- [8] C.B. Olalude, Adegboyega AM, Bamigboye AY, Abiona DL, Anifowose OA, et al. Proximate analysis and mineral content determination of traditionally processed locust bean (*Parkia biglobosa*) fruit pulp for possible industrial application, *Edelweiss Chem Sci J* 4: 10-13, 2021.
- [9] G. Kambou, N. Somé, and S. Ouedraogo, "Effets des cosses de néré, *Parkia biglobosa* (Jacq.) R. Br. Ex. G. Ddon sur l' émergence du *Striga hermonthica* (Del.) Benth, les propriétés agrochimiques du sol et le rendement du maïs," *Bull. la Rech. Agron.*, vol. 29, no. 226, pp. 16–30, 2000.
- [10] O. Fayinminnu, O. Adeniyi, O. Alabi, and D. Omobusuyi, "Potentials of Aqueous Extract of Pod Husk *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth as a Biopesticide in Okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) Production," *J. Agric. Ecol. Res. Int.*, vol. 12, no. 1, pp. 1–12, 2017.
- [11] A. Y. Adama, Y. A. Jimoh, and S. S. Kolo, "Effect of Locust Bean Pod Ash on Compaction Characteristics of Weak Sub Grade Soils," *Int. J. Eng. Sci. Invent.*, vol. 2, no. 1, pp. 27–34, 2013.
- [12] S. Banakinao, S. Tiem, K. Lolo, Y. Koutsawa, and K. Sa Bedja, Dataset of the use of tannin of néré (*Parkia biglobosa*) as a solution for the sustainability of the soil constructions in West Africa. *Data Brief*. 2016 Sep; 8: 474–483.
- [13] S. A. Abagale, S. K. Twumasi, and J. Awudza, "Chemical Analyses of *Parkia biglobosa* Fruit Husk Extract and Lateritic Soil Used in Ethnobotanical Preparation of Mud Wall Plaster in Some West African Countries," vol. 6, no. 2, pp. 14–19, 2020.
- [14] Y. Jesse, H. Sule, and C. Philip, Doruwa (*Parkia biglobosa*) fruit husk and hyptis (*Hyptis spicigera*) leaves for controlling root-knot nematodes (*Meloidogyne incognita*) in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill C.V.) *J. Trop. Agric.*, vol. 44, pp. 83–85, 2006.
- [15] S. K. Twumasi and J. A. M. Awudza, Chemical analyses of aqueous extract of *Parkia biglobosa* fruit husk collected from Northern Ghana, *Sci. Res. Essays*, vol. 8, no. 14, pp. 589–595, 2013.
- [16] A. Ibrahim, M. Adamu, A. Bello, D. Dahiru, Effects of Crude Saponins Extract of *Parkia biglobosa* Fruit-Husk on Some Liver and Kidney Indices on Gentamicin-Induced Nephrotoxicity in Male Wistar Rats," vol. 4, no. 1, pp. 14–18, 2021.
- [17] F. T. D. Bothon, J. Adovelande, C. P. A. Dossa, F. Avlessi, D. V. Wotto, and D. C. K. Sohounhloue, "Phytochemical Study, Vitamins Content and Free Radical Scavenging Activity of *Bixa Orellana* L. Leaves From Benin," *Indo Am. J. Pharm. Sci.*, vol. 5, no. 9, pp. 9106–9113, 2018.
- [18] M. Atindehou *et al.*, "Isolation and Identification of Two Antibacterial Agents from *Chromolaena odorata* L. Active against Four Diarrheal Strains," *Adv. Microbiol.*, vol. 03, no. 01, pp. 115–121, 2013.
- [19] M. C. Houston, K. J. Harper Potassium, magnesium, and Calcium: Their Role in Both the cause and Treatment of hypertension" *J Clin Hypertens*, 10(7 Suppl 2):3-11, 2008
- [20] B.S.Salit, E. U. Onche, I. J. Mbonu, P. N. Olotu, L. Lajide *Parkia Biglobosa* Plants Parts: Phytochemical, Antimicrobial, Toxicity And Antioxidant Characteristics, *Journal of Natural Sciences research* Vol.4, N°2, 2014 .
- [21] S. Ali, M. Alam, G. M. Hasan, Md I. Hassan. Potential therapeutic targets of *Klebsiella pneumoniae*: a multi-omics review perspective. *Briefings in Functional Genomics*, Volume 21, Issue 2, Pages 63–77, 2022.
- [22] M. De Jode and L. Debarbieux, "Pseudomonas aeruginosa utilise ses bactériophages filamenteux pour manipuler la réponse immunitaire," *Med. Sci. (Paris)*, vol. 35, no. 11, pp. 828–830, 2019.
- [23] J. el bakkouri, H. Belabbes, K. Zerouali, A. Belaiche, D. Messaouidi Résistance aux Antibiotiques d'Escherichia coli Uropathogène Communautaire et Consommation d'Antibiotiques à Casablanca (Maroc), *European Journal of Scientific Research*, Vol. 36, N°1, 2009.
- [24] Y. B. Lahlou, E. Benaissa, A. Maleb, M. Chadli, M. Elouennass, Resistance aux antibiotiques des souches d'Escherichia coli isolées des urines et revue de la littérature; *Journal marocain des sciences médicales*, tome 22, N°3, 2020
- [25] S.K. Verma, R. Verma, K. S. Sharath Kumar, L. Banjare, A.B. Shaik, R.R. Bhandare, K.P. Rakesh, K.S. Rangappa "A key review on oxadiazole analogs as potential methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) activity: Structure-activity relationship studies" *European Journal of Medicinal Chemistry* (Elsevier Masson)-Vol. 219, pp 113442-113442, 2021
- [26] W. Nakyai, W. Pabuprapap, W. Sroimee, V. Ajavakom, B. E. Yingyongnarongkul, and A. Suksamrarn, "Anti-acne vulgaris potential of the ethanolic extract of *Mesua ferrea* L. Flowers," *Cosmetics*, vol. 8, no. 4, pp. 1–12, 2021.
- [27] G. Khanna Venkatesan, A. Kuppusamy, S. Devarajan, and A. Kumar Krishna Kumar, "Review on Medicinal Potential of Alkaloids and Saponins," vol. 1, pp. 1–20, 2019.
- [28] B. Kaczmarek, "Tannic acid with antiviral and antibacterial activity as a promising component of biomaterials-A minireview," *Materials (Basel)*, vol. 13, no. 14, 2020.

Étude théorique de la structure des benzodiazépines et du mécanisme de leur régression cyclique dans l'obtention des dérivés du benzimidazole

A. Timotou^{1,2} ; D. Zon^{1,2} ; A.L.C. Kablan^{1,2} ; T. Camara¹ ; A.J. N'gouan³ ; A. Adjou¹.

1. *Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière, UFR Sciences des Structures de la Matière et Technologie, Université Félix Houphouët Boigny, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.*
2. *Département de Mathématiques-Physique-Chimie, UFR des Sciences Biologiques, Université Peleforo GON COULIBALY, BP 1328 Korhogo, Côte d'Ivoire.*
3. *Laboratoire de Cristallographie et Physique Moléculaire, UFR Sciences des Structures de la Matière et Technologie, Université Félix Houphouët Boigny de Cocody, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.*

Résumé :

Différentes voies classiques des 2-substitués benzimidazole ont été rapportées dans la littérature. Nous pouvons citer les méthodes de LEONARD] et de PHILLIPS . Ce travail présente la synthèse des 2-substitués benzimidazole à partir de la régression cyclique des benzodiazépines dans deux milieux différents. Ces benzodiazépines possèdent des groupements aryles Ar₁ et Ar₂ en des positions clés de leur squelette. Les benzodiazépines sont synthétisées par condensation des cétones α , β -éthyléniques(chalcones) avec des dérivés de l'orthophénylène diamine (OPDA) selon le protocole de Ricaurte Rodriguez *et al.* . Chauffées dans le DMF pendant 24h en milieu acide ou basique, ces benzodiazépines conduisent aux 2-substitués benzimidazole Les calculs théoriques ont été effectués sur la benzodiazépine en utilisant la méthode quantique B₃LYP avec la base 6-31(d,p) implantée dans le programme GAUSSIAN 03. Les structures des composés ont été élucidées par les méthodes spectroscopiques usuelles. En milieu basique c'est le groupement Ar₁ qui se fixe en n position -2 du benzimidazole. Par contre en milieu acide cette position est occupée par Ar₂. Les atomes concernés par les calculs théoriques dans la benzodiazépine sont les atomes d'azote N₁ et N₅ et les atomes de carbones C₂, C₃ et C₄. Cette étude a permis de synthétiser des dérivés du benzimidazole par régression cyclique des benzodiazépines. C'est donc une voie originale d'accès au noyau benzimidazole, connu pour son large spectre d'activités biologiques. En perspectives nous comptons diversifier les bases et les acides.

Mots clés : Chalcones, Benzodiazépines, Benzimidazole, Régression cyclique.

Theoretical calculations of benzodiazepines and study of their mechanism by ring contraction rearrangement to obtain benzimidazole

Abstract

Different classical route to obtain 2-substituted benzimidazole have been reported in the literature. We can cite the methods of LEONARD and PHILLIPS This work presents the synthesis of 2-substituted benzimidazole from the cyclic regression of benzodiazepines in two different medium. These benzodiazepines have Ar₁ and Ar₂ aryl groups at key positions in their structure. Benzodiazepines are synthesized by condensation of α , β -ethylenic ketones (chalcones) with derivatives of orthophenylenediamine (OPDA) according to the protocol of Ricaurte Rodriguez *et al.* [3]. Heated in DMF for 24 hours in an acidic or basic medium, these benzodiazepines lead to 2-substituted benzimidazole Theoretical calculations were performed on the benzodiazepine using the B₃LYP quantum method with the base 6-31(d,p) implemented in the program GAUSSIAN 03. The structures of the compounds have been elucidated by the usual spectroscopic methods. In a basic medium, it is the Ar₁ group which attaches to the position -2 of the benzimidazole. On the other hand, in an acid medium, this position is occupied by Ar₂. The atoms concerned by the theoretical calculations in the benzodiazepine are the nitrogen atoms N₁ and N₅ and the carbon atoms C₂, C₃ and C₄. This study made it possible to synthesize benzimidazole derivatives by cyclic regression of benzodiazepines. It is therefore an original way of accessing the benzimidazole nucleus, known for its broad spectrum of biological activities. In perspective, we intend to diversify bases and acids.

Keywords: Chalcones, Benzodiazepines, Benzimidazole, Cyclic regression.

I) INTRODUCTION

Depuis plusieurs années nous développons au sein de notre laboratoire des activités de recherche dans le domaine de l'hétérochimie. Cela nous a permis de mener différentes thématiques ou il a été question d'élaborer des structures telles que les chalcones (cétone α , β éthylénique) qui sont des précurseurs indéniables de synthèse à cause de leur enchainement hétéroatomique qui leur confère de multiples propriétés diéniques, électrophiles, nucléophiles, dipolarophiles et bis électrophiles .Elle sont aussi

reconnues pour leurs nombreuses propriétés biologiques notamment antibactérienne, antifongique, anti-inflammatoire.

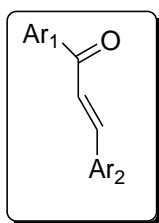
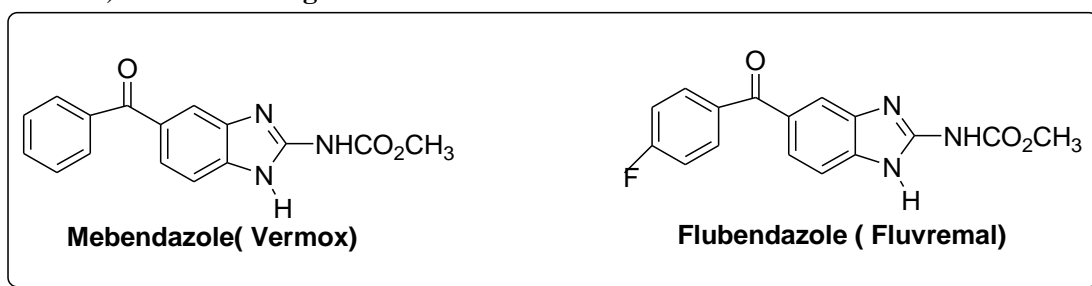
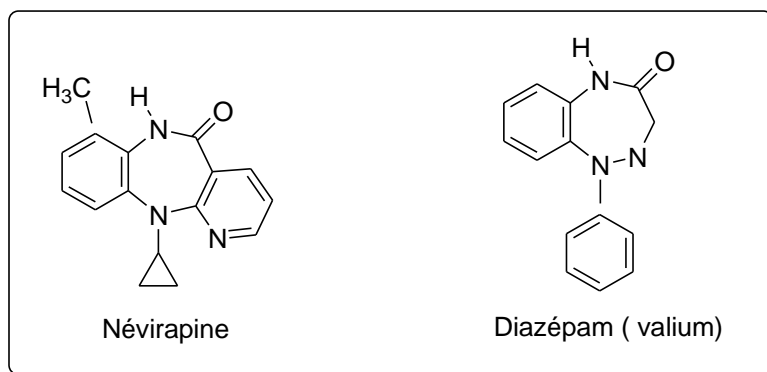


Figure 1 : Chalcones

. La synthèse des dérivés comportant le noyau du benzimidazole traitant des maladies parasitaires se retrouvant dans les molécules commercialisées telles que le Mebendazole (Vermox) et Flubendazole (Fluvermal) a été menée. **Figure 2**



Par la suite nous nous sommes intéressés aux 1-5 benzodiazépines qui sont des analogues de la névirapine et du diazépam utilisés respectivement en tant que molécules anti VIH-1et hypnotique. **Figure 3** ci-dessous



Les hétérocycles 1-5 benzodiazépines sont obtenus par condensation des dérivés de l'orthophénylènediamine avec des chalcones diversement substituées. Les benzodiazépines traitées en milieu acide ou basique conduisent à deux composés différents de benzimidazole. Les calculs théoriques effectués sur les benzodiazépines nous ont permis de comprendre la sélectivité de la fixation en position 2 du benzimidazole selon le milieu

II) MATERIEL ET METHODES

II-1) Matériel de laboratoire et produits chimiques

Le matériel ci-dessous a été utilisé :

Un agitateur magnétique, un bicol muni d'un réfrigérant, un ratavapor, un appareil de banc kofler, un spectromètre BRUKER ADVANCE BPX 3505(RMN) un appareil HP 5989X(SDM) et la verrerie.

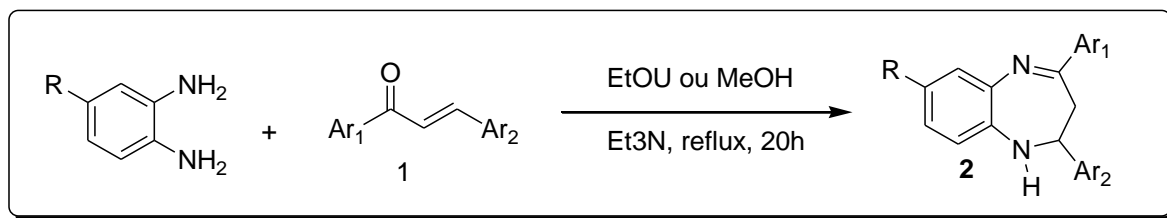
Les solvants utilisés sont le dioxane, le DMF, l'acétate d'éthyle, l'éthanol, le dichloro méthane et les produits de synthèse.

II-2) Synthèse chimique

II-2-1) Synthèse des benzodiazépines

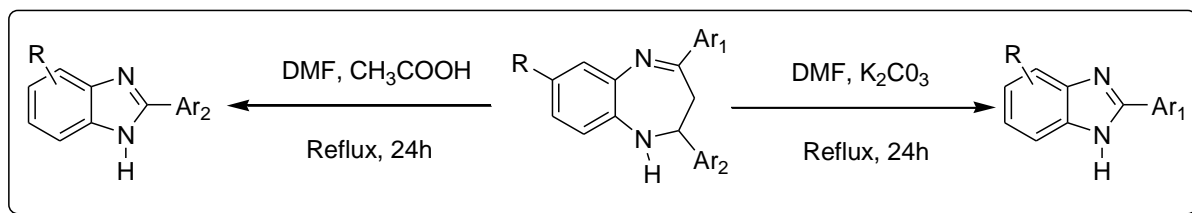
Les dérivés de chalcones 1 synthétisées par condensation des dérivés de l'acétophénone avec des dérivés du benzaldehyde en milieu basique sont chauffés au reflux d'un mélange d'orthophénylène diamine,

d'éthanol et de triéthylamine à l'abri de la lumière pendant 20h pour aboutir à des dérivés de benzodiazépines 2 selon le schéma 1 ci-dessous.



II-2-2) Synthèse des dérivés du benzimidazole substitués en position 2

Les benzodiazépines traitées en milieu acide ou basique permettent d'aboutir à deux types de benzimidazole selon le schéma 2 ci-dessous.



II-2-3) Calcul des indices de Mulliken

Soit une molécule quelconque on calcule les indices de l'atome k de la molécule neutre ($q_k(N)$), de sa forme anionique ($q_k(N+1)$) et de sa forme cationique ($q_k(N-1)$). Les indices de Fukui de chaque atome k de la molécule f_k^+ , f_k^- et Δf donnent des informations sur la nature de l'attaque nucléophile ou électrophile que peut subir l'atome k.

$$f_k^+ = q_k(N+1) - q_k(N) \text{ et } f_k^- = q_k(N) - q_k(N-1) \text{ et le calcul de la différence } \Delta f = f_k^+ - f_k^-$$

Les calculs théoriques approfondis ont été effectués sur la benzodiazépine en utilisant la méthode quantique B₃LYP avec la base 6-31(d,p) implantée dans le programme GAUSSIAN 03.

III) RESULTATS ET DISCUSSION

1) Synthèse des benzodiazépines

Selon le protocole décrit plus haut des benzodiazépines 2 diversement substituées ont été isolées avec des rendements allant de 50 à 80 %. **La figure 4** ci-dessous donne la structure des benzodiazépines et le tableau 1 présente l'ensemble des résultats obtenus.

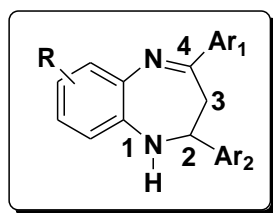


Figure 4 : structure des benzodiazépines

Composés	R	Ar ₁	Ar ₂	Rdt (%)	PF(°C)
2a	CH ₃	phenyl	phenyl	50	116
2b	H	o-hydroxyphenyl	p-chlorophenyl	78	176
2c	H	o-hydroxyphenyl	p-isopropylphenyl	56	126
2d	H	o-hydroxyphenyl	2,4-dichlorophenyl	66	152
2e	H	o-hydroxyphenyl	p-methoxyphenyl	80	138
2f	H	o-hydroxyphenyl	p-methylphenyl	75	120
2g	H	p-methylphenyl	thienyl	45	126
2h	H	phenyl	p-methoxyphenyl	71	122
2i	H	phenyl	p-chlorophenyl	73	144

2j	CH ₃	phenyl	2-chlorophenyl	65	123
2k	CH ₃	phenyl	2-chloro-4-nitrophenyl	77	200

Tableau 1 : les différentes benzodiazépines obtenues

En RMN ¹H : les protons H3 au niveau de la position -3 ne sont pas équivalents dans les composés. Ces protons HA qui sortent autour de 3,10 ppm(dd) et HM : autour de 3,20 ppm(dd) sont couplés avec le proton HX qui apparait autour de 5,60 ppm(dd)

JAM = 12 Hz ; JMX = 4 Hz ; JAX = 8 Hz

Les protons HA, HM et HX forment un système **AMX** voir figure 5 ci-dessous

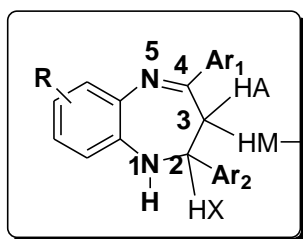


Figure 5 : Système AMX des benzodiazépines

L'explication de l'existence du système **AMX** vient de la création d'une liaison hydrogène entre **H** du groupement **OH** et **N** du noyau de la benzodiazépine. C'est le cas avec le composé **2e** figure 6 ci-dessous

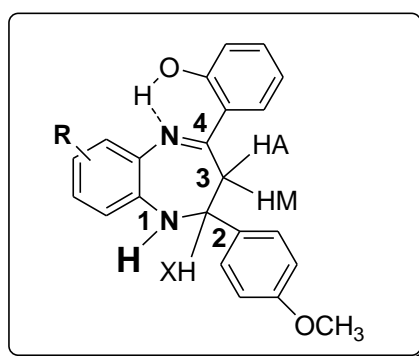


Figure 6 : Structure de la benzodiazépine 2e

L'existence de la liaison hydrogène est confirmée par l'analyse aux rayons X du composé **2e** ou l'on voit apparaître clairement cette liaison O1-H-N1

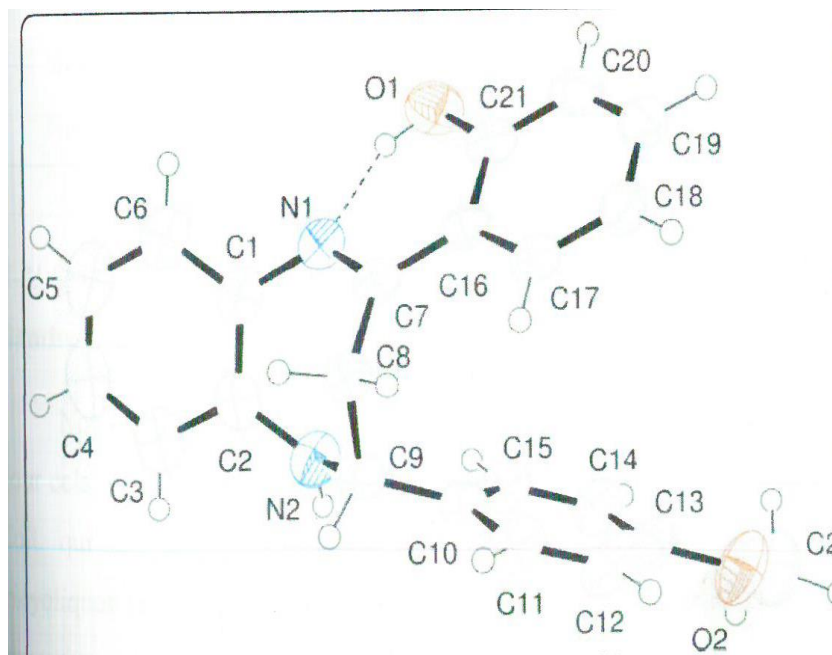
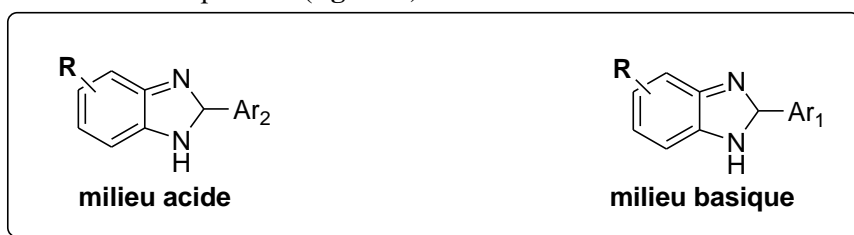


Figure 7 : Diagramme ORTEP de la benzodiazépine 2e

2) Synthèse des dérivés du benzimidazole

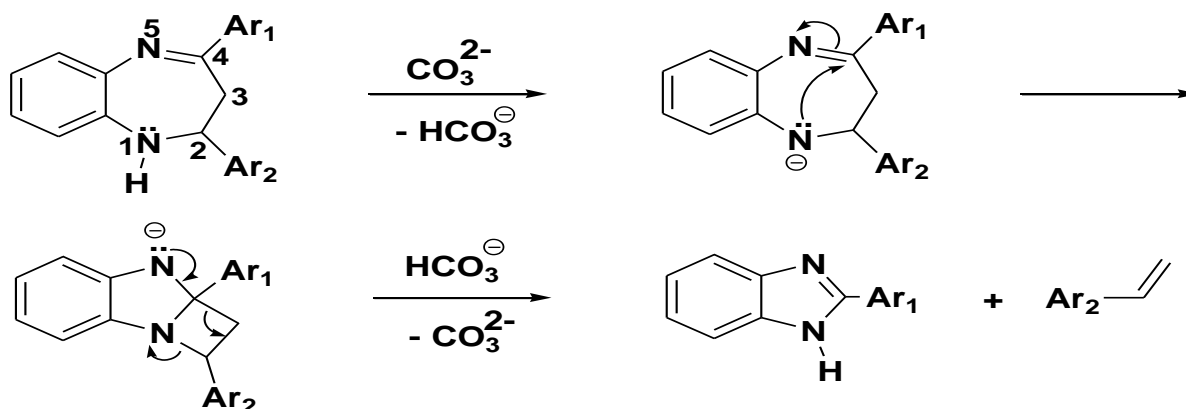
Les benzodiazépines (figure 4) précédemment synthétisées sont traitées en milieu acide et basique pour conduire à des dérivés de benzimidazole substitués en position 2

Les résultats obtenus montrent qu'en milieu acide (CH_3COOH , DMF, reflux) c'est le groupement Ar_2 qui se fixe en position 2 du noyau du benzimidazole, par contre en milieu basique (K_2CO_3 , DMF, reflux) c'est Ar_1 qui se fixe dans cette position (**figure 8**)

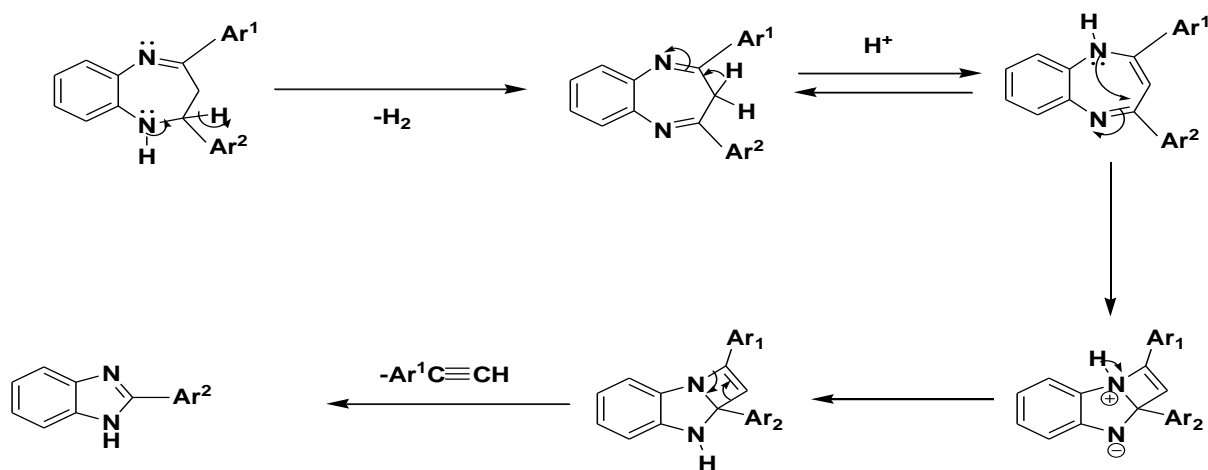


Les calculs théoriques f^+_k , f^-_k et Δf effectués sur les atomes d'azote N1 et N5 montrent qu'en milieu acide N5 est plus nucléophile que N1 ce qui est le contraire en milieu basique. Nous proposons donc les deux mécanismes ci-dessous (**schéma 3**)

Milieu basique



Milieu acide



Les benzimidazoles sont obtenus avec des rendements allant de 50 à 72%.

Les différentes structures sont confirmées par les études spectroscopiques RMN¹H, RMN¹³C et SDM.

Par comparaison des spectres RMN ¹H et ¹³C des benzimidazoles et des benzodiazépines, on note :

La disparition des pics des protons CH₂ et CH (3,10, 3,20 et 5,60 ppm)

des carbones dans la zone aromatique (110-130 ppm) de la benzodiazépine.

La Présence des pics des protons CH₃; OCH₃; isopropyl; N(CH₃)₂

Cela est confirmé par la juxtaposition des spectres de la benzodiazépine **2c** et du benzimidazole obtenu en milieu acide (**figure 9**).

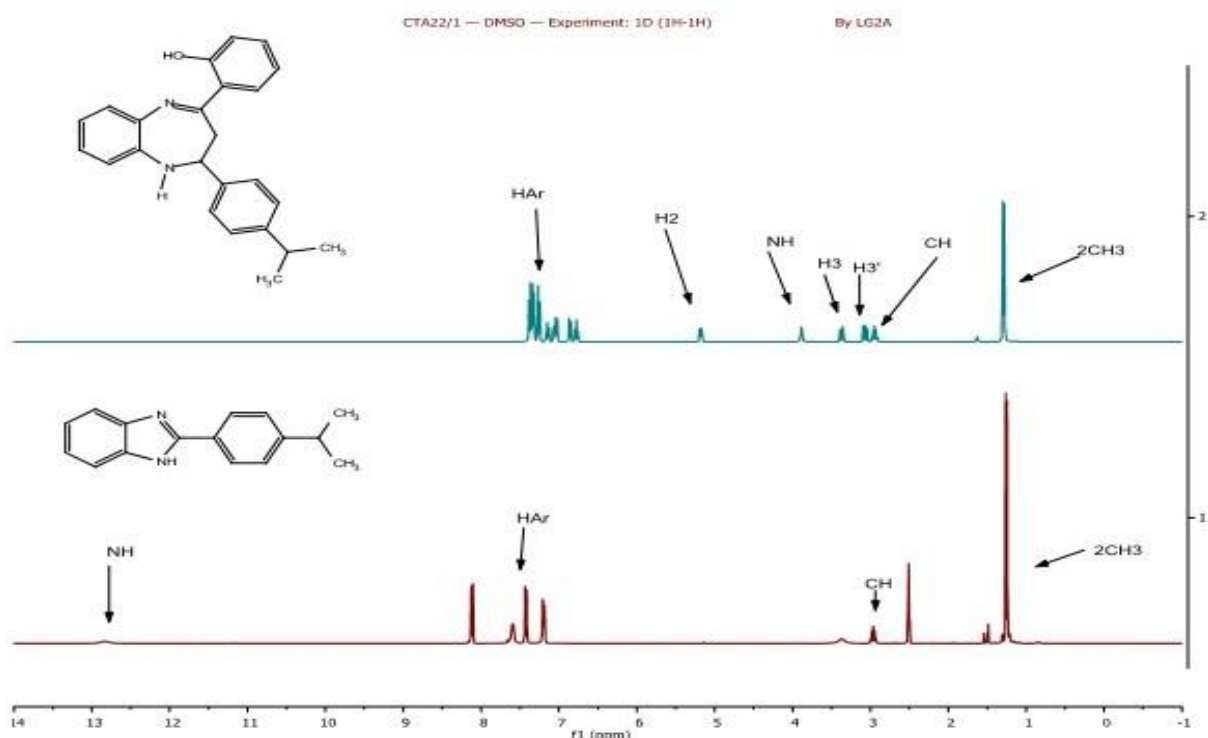


Figure 9 : comparaison du spectre de la benzodiazépine **2c** et du benzimidazole obtenu

IV CONCLUSION ET PERSPECTIVES

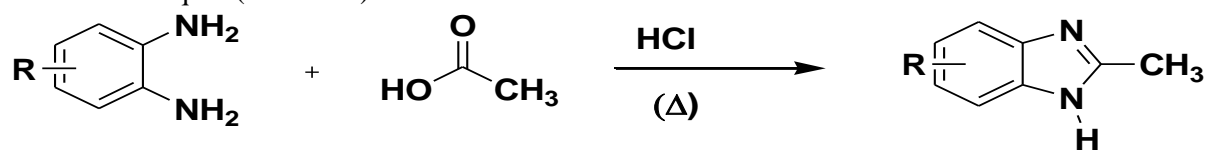
Nous avons synthétisé des benzodiazépines par condensation de l'OPDA avec les chalcones en présence de base .

En milieu basique, des benzimidazoles substitués en position-2 par des groupements Ar₁ ont été isolés

En milieu acide, des benzimidazoles substitués en position-2 par des groupements Ar₂ ont été obtenus

Ce travail est une voie originale d'accès au noyau du benzimidazole contrairement aux méthodes usuelles de synthèse (PHILLIPS, VAN ALLAN, LEONARD...)

L'intérêt de la méthode est qu'elle est une alternative à la synthèse de PHLLIPS qui est limitée aux acides aromatiques (schéma 4)



En perspectives nous comptons utiliser d'autres bases et acides afin d'étudier l'influence du milieu sur le comportement des benzodiazépines.

References: bibliographiques

1. PHILLIPS, M.A. ; J. Chem. Soc., 69, 1928, 2393.
2. LEONARD, N.J. ; J. Am. Chem. Soc., 1947, 69, 2393.
3. RICAURTE, R. ; J. Chem. Soc., 34, 1997, 1131.
- 4 MORELL, C. ; A. GRAND. ; A. TORRO-LABBE. ; J. Phys. Chem. A., 109, 2005, 205-212.

Preparation of heterogeneous catalyst-based potassium polyferrite for sunflower oil ethanolic transesterification

Igor W.K. Ouédraogo^{a*}, Emma Brice Happi Tchuessa^a, Balkissa Sawadogo^a, Sylvie Mouras^b, Joel Blin^b

^a Institut International d'Ingénierie de l'Eau et de l'Environnement (2iE), (LabEREE), Rue de la Science, 01 BP 594, Ouagadougou 01, Burkina Faso

^b Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD), UPR BioWooEB, F-34398 Montpellier, France

*Corresponding author: Igor W.K. Ouédraogo (ouedigor@yahoo.fr)

Abstract:

The catalytic behavior of K/Fe and K/Mn catalysts for the synthesis of biodiesel by ethanolic transesterification of sunflower vegetable oil was investigated. The catalysts were prepared according to the conventional precipitation, impregnation and calcination methods. The catalysts were characterized by using the techniques of X-ray diffraction (XRD), FT-IR spectroscopy, Thermogravimetric analysis (TGA) and Hammett-Benzoic acid indicator titration. Catalytic tests for biodiesel production revealed a good activity of the K/Fe catalyst compared to K/Mn, which is consistent with the number of basic sites available in the bulk. Potassium polyferrite phases $K_{1.55}Fe_{11}O_{17}/K_2Fe_{10}O_{16}$ as basic active sites on the catalyst surface were generated, resulting in an increase in the catalytic ability for the synthesis of biodiesel. The optimum conditions for the process were : 30 wt.% KOH loading Fe substrat, calcination temperature 800°C, time 2 h ; catalyst amount 5% ; ethanol to oil molar ratio 9 : 1 ; and a reaction temperature of 70°C. The process was able to transesterify oil to ethyl esters in the range of 98.2% within 45 min. The catalyst is able of tolerating free fatty acid and moisture up to 0.5% and 1%, respectively. K/Fe₃₋₈₀₀ catalyst was successfully reused at least three times without post-treatment and the obtained yield was higher than 92.3%. The deactivation mechanism and the regeneration process of K/Fe₃₋₈₀₀ catalyst were investigated using TGA. This finding showed that the loading of potassium on iron oxide catalysts provides valuable advantages such as strong basic active sites and enhanced catalytic transesterification of sunflower oil.

Key words : Transesterification, Potassium ferrite, Ethyl esters, Heterogeneous catalyst

Preparation of heterogeneous basic catalysts-based potassium polyferrite for sunflower oil ethanolic transesterification

Résumé :

Le comportement catalytique des catalyseurs K/Fe et K/Mn pour la synthèse de biodiesel par transestérification éthanolique d'huile de tournesol avec de l'éthanol a été étudié. Les catalyseurs ont été préparés selon les méthodes classiques de précipitation, d'impregnation et de calcination. Les catalyseurs ont été caractérisés en utilisant les techniques de DRX, IR-TF, ATG et de titrage de l'indicateur d'acide Hammett-Benzoïque. Des essais catalytiques pour la production de biodiesel ont révélé une bonne activité du catalyseur K/Fe par rapport à K/Mn, ce qui est cohérent avec le nombre de sites basiques disponibles. Les conditions optimales pour le procédé étaient : 30 wt. % KOH / Fe, température de calcination 800°C, durée 2 h, dose de catalyseur 5 %, rapport molaire éthanol / huile 9:1, température de réaction de 70°C. Le catalyseur K/Fe a été réutilisé avec succès au moins trois fois sans post-traitement et le rendement obtenu était supérieur à 92,3 %.

Cette recherche a montré que les catalyseurs à base d'oxyde de fer et de potassium offrent des avantages tels que des sites actifs basiques forts et une transestérification catalytique améliorée de l'huile de tournesol.

Mots clés : Transesterification, Potassium ferrite, Ethyl esters, Heterogeneous catalyst

1. Introduction

One of the challenges in developing processes for the production of “green biodiesel” from ethanol and vegetable oil, is to minimize any harmful effects of liquid effluents on the natural environment. This means that it is necessary to design non-toxic heterogeneous catalysts in which the chemical active sites are stable and efficient. Transition metal oxides and their alloys have gained much attention as catalysts for the production of biodiesel due to their high heterogeneous catalytic activity for the transesterification reaction. In addition, heterogeneous catalysts have the advantage of being able to be recovered from the post-reaction medium and reused for several reaction cycles. This reduces the number of steps in the industrial process and the proportion of waste disposal compared to the homogeneous process.

In recent years, significant research has gone into identifying suitable solid catalysts to improve yields by reducing the cost of producing biodiesel. For example, calcium-containing catalysts such as CaZnO

(Taufiq-Yap et al., 2011), Ca_2MnO_4 (Dias et al., 2013), CaFe_2O_4 et $\text{Ca}_2\text{Fe}_2\text{O}_5$ (Xue et al., 2014), CaO-NiO et $\text{CaO-Nd}_2\text{O}_3$ (Teo et al., 2014) et le CaO/Mo (Kaur and Ali, 2015) have been used as interesting catalysts for biodiesel production.

Very few studies have been done on the manufacture and use of iron and manganese oxides-based catalysts for the production of biodiesel. The objective of this work was to study the catalytic performance of iron and manganese oxides, two transition metals, supported potassium catalysts in the transesterification reaction of sunflower oil in the presence of ethanol. The effect of the catalyst preparation conditions, the transesterification reaction parameters as well as the sensitivity of the contaminants of transesterification reaction reagents, were evaluated. The potential reuse and the stability of the catalyst were investigated. The thermogravimetric analyze was used to characterize and highlight the phenomena that are at the origin of the catalyst deactivation mechanisms.

2. Materials and methods

2.1. Materials

Commercial refined sunflower oil with an acid value of 0.2 mg KOH/g was used as received for transesterification reaction. Anhydrous ethanol (purity $\geq 99.8\%$) was purchased from Carlo Erba. Oleic acid (purity $\geq 98\%$) for acidity test was provided by Sigma-Aldrich. Nonahydrated iron(III) nitrate $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (purity $\geq 98\%$, Sigma-Aldrich), manganese(II) nitrate $\text{Mn}(\text{NO}_3)_2$ (purity $\geq 98\%$, Aldrich), potassium hydroxide KOH (purity $\geq 85\%$, Sigma-Aldrich) and ammonia (purity $\geq 20.5\%$, GPR Rectapur) were used as catalyst precursors. Hexane (Sigma Aldrich, analytical grade) was used as solvent. Glycerol (Sigma Aldrich, $\geq 99\%$) was used for thermogravimetric analysis. Hammett's reagents Bromothymol blue ($H_- = 7.2$), phenolphthalein ($H_- = 8.2$), 2,4-dinitroaniline ($H_- = 15$) and nitroaniline ($H_- = 18.4$) used for determination of basicity were purchased from Aldrich.

2.2. Catalysts preparation

Potassium and transition metal mixed oxide catalysts were prepared according to the conventional precipitation, impregnation and calcination methods. 0.25 mol of nonahydrated iron nitrate was dissolved with 500 mL distilled water. About 70 mL of ammonia (20.5%) previously diluted with 200 mL of distilled water was slowly added into the metal nitrates solution and stirred at 300 rpm for 2 h. The precipitate (denoted Fe) was filtered and deeply washed with distilled water. The catalysts were prepared by mixing 1 g of Fe with 10 mL of basic aqueous solution containing a desired amount of KOH. The mixture was dried overnight at 105°C to evaporate the water, and then calcined at desired temperature (200-1000 $^\circ\text{C}$) under static air for 2 h. The influence of the active precursor was studied by using 10, 20, 30, 45 and 60 wt.% of KOH loading, which were denoted respectively K/Fe_{1-y} , K/Fe_{2-y} , K/Fe_{3-y} , K/Fe_{4-y} and K/Fe_{5-y} , where Fe represents the iron substrate, K the potassium hydroxide and y the calcination temperature. The same preparation was conducted using manganese nitrate and in this case was denoted K/Mn.

2.3. Catalytic transesterification of sunflower oil

The transesterification reaction was conducted into a round bottle flask (50 mL) equipped with a water-cooled reflux condenser. In the round bottle, 5 g of sunflower oil was mixed with desired amounts of anhydrous ethanol (1.1– 5.1 mL, i.e. molar ratio ethanol/oil 3:1 to 18:1) and catalyst (0.1– 0.5 g). Then the mixture was stirred at 300 rpm under reflux, at a constant temperature of 70°C . After a desired reaction time (15– 60 min), the mixture was cooled down to room temperature. The catalyst was separated from the resulting mixture by vacuum filtration. Excess ethanol was recovered under vacuum at 50°C with a rotational evaporator apparatus, and the mixture was left to settle and separate in two liquid phases.

2.4. Characterization

The weight losses during heating of samples were measured by using a SETSYS Evolution TGA 16/18 Setaram Instrumentation. To measure the basicity of the catalysts, the Hammett-Benzoin acid indicator titration method was used. Attenuated total reflectance (ATR) spectra were carried out on a Bruker Tensor 27 ATR-FTIR spectrometer equipped with ZnSe crystal (US). X-ray diffraction (XRD) patterns of samples were recorded using a X Pert-Pro (Panalytical) diffractometer. The acid value of vegetable oil was determined according to ASTM D974-14 standard method, by titration with KOH using

phenolphthalein as indicator. The ethyl ester content of the mixture after transesterification was determined by gas chromatograph (Fisher Scientific apparatus, Trace 1300 model) equipped with a flame ionization detector (GC-FID).

3. Results and discussion

3.1. Influence of catalyst preparation conditions

The transesterification reaction was studied using 30 wt.% KOH loading Fe and Mn catalysts, i.e. K/Fe₃ and K/Mn₃ respectively (Fig. 1a). Without the addition of potassium, the transesterification reaction of supports (Fe and Mn) do not occur whatever the calcination temperature. The ethyl esters content of K/Fe₃ and K/Mn₃ catalysts increased when the calcination temperature increased and reached a maximum yield of 73% and 14% at respectively 800°C and 1000°C. The basic strength of catalysts were measured in the range order of 15.0 <H₋< 18.4. It is clear that increasing the calcination temperature increases the total amount of basic sites on the surface of the catalyst (Table 1). The total amount of basic sites reached 1.50 mmol/g for K/Fe₃₋₈₀₀ and 0.4 mmol/g for K/Mn₃₋₈₀₀ catalyst. The XRD pattern depicted in Fig. 2 show that the increase in the calcination temperature at 800°C generated K_{1.55}Fe₁₁O₁₇ and K₂Fe₁₀O₁₆ diffraction peaks. However, the biodiesel yield dropped to about 20% with further increasing the calcination temperature at 1000°C. The overheating of the solid catalyst results inevitably to the catalyst *sintering* (Sievers et al., 2016). This phenomenon leads to significant agglomerations of nanoparticles on the surface of the catalyst, and reduces the number of available active sites (Table 1), which in turn decreases the catalytic activity (Fina et al., 2015).

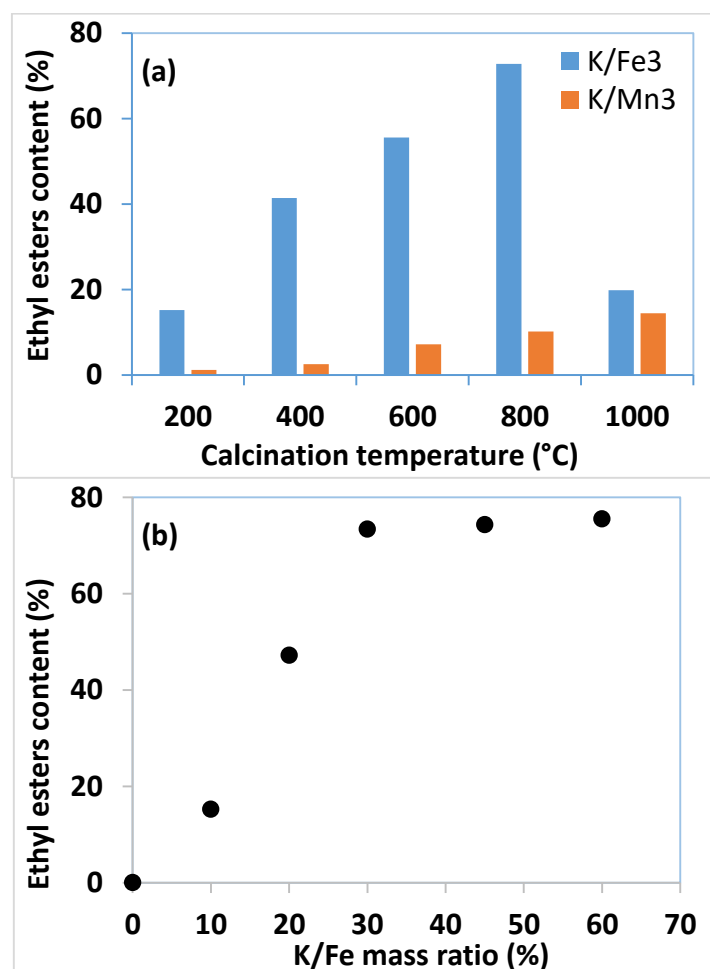
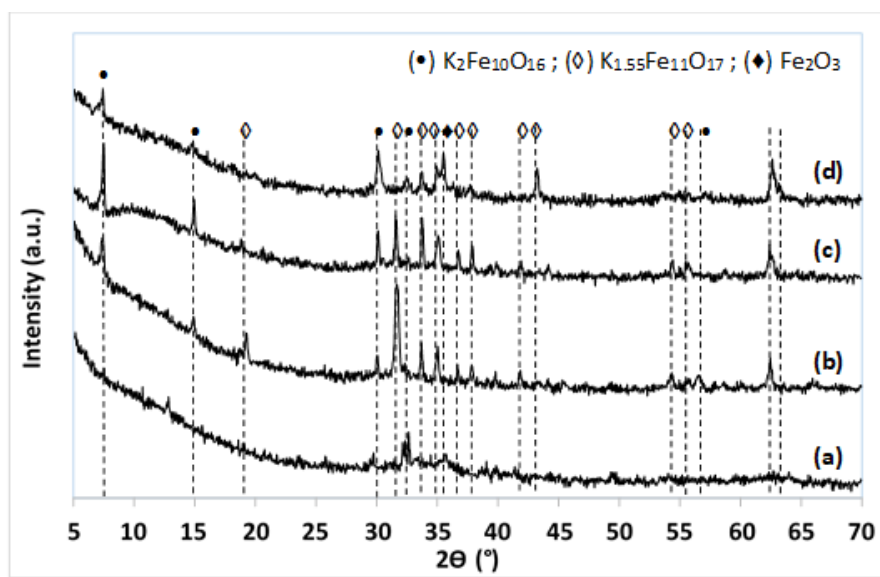


Fig. 1. Influence of catalyst preparation conditions on catalytic activity (Transesterification conditions: Ethanol-to-oil molar ratio 9 :1, catalyst loading= 2 wt.% (vs oil), reaction temperature = 70°C, reaction time = 30 min, stirring speed 300 rpm).

Table 1: Basic strengths (H_-) and total amount of basic sites of catalysts

Catalyst	Basic strength	Basicity amount (mmol/g)
Fe ₄₀₀	$H_- < 7.2$	No reaction
K/Fe ₃₋₄₀₀	$15.0 < H_- < 18.4$	1.00
K/Fe ₃₋₈₀₀	$15.0 < H_- < 18.4$	1.50
K/Fe ₃₋₁₀₀₀	$15.0 < H_- < 18.4$	0.68
Mn ₄₀₀	$H_- < 7.2$	No reaction
K/Mn ₃₋₄₀₀	$15.0 < H_- < 18.4$	0.28
K/Mn ₃₋₈₀₀	$15.0 < H_- < 18.4$	0.40
K/Mn ₃₋₁₀₀₀	$15.0 < H_- < 18.4$	0.29

**Fig 2:** XRD patterns of fresh (a) K/Fe₂₋₈₀₀, (b) K/Fe₃₋₈₀₀ (c) K/Fe₃₋₁₀₀₀ and (d) reused K/Fe₃₋₈₀₀* catalysts

3.3. Reagent contaminants tolerance

Fig. 3 describes the variations of ethyl esters yield with water contents from 0.5 to 5 v % relative to ethanol. The results showed a slight decrease in the ethyl esters yield for 2% water content and a considerable drop when the water content reached 5%. The ethyl esters yields are 87.9% and 27.4% respectively for 2% and 5%. This decrease could be explained on the one hand by the sensitivity of the active phase of the catalyst to form hydroxide compounds in the presence of water, and secondly, to the shift of the equilibrium of the reaction towards hydrolysis of ethyl esters, when the reaction system contains water.

The tolerance of the catalyst to the presence of free fatty acid was studied with different fatty acid contents (0.5 to 5 wt. % vs oil). Figure 6 showed ethyl esters yield of 98.3%, 94.7%, 15.3% and 12.8% for respectively 0.5%, 1%, 2% and 5% of free fatty acid contents. In the presence of sufficient amount of fatty acid, i.e. ≥ 2 wt.% of the oil, basic active phases of the surface of the catalyst possibly react with carboxylic acid groups to form soap, hence the decline in catalytic activity (Hindryawati et al., 2014).

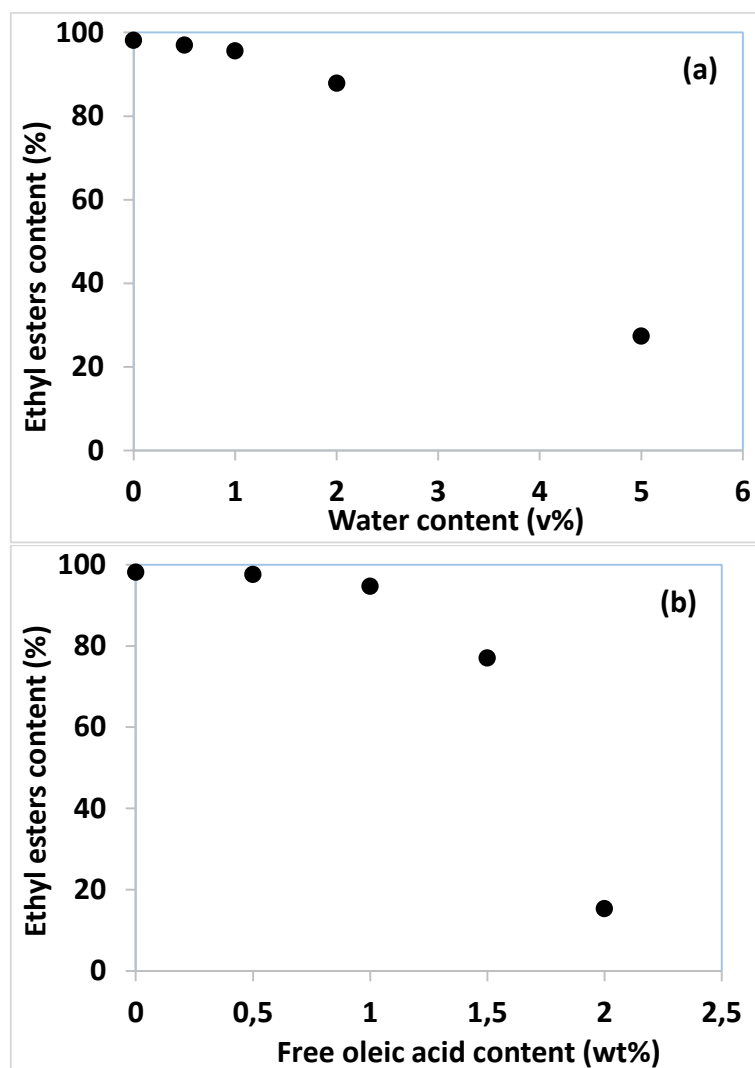


Fig. 3. Influence of reagent contaminants on K/Fe₃₋₈₀₀ catalytic activity
(**Transesterification conditions:** Ethanol-to-oil molar ratio 9 :1, catalyst loading= 5 wt.% (vs oil), reaction temperature = 70°C, reaction time = 45 min, stirring speed 300 rpm).

3.4. Stability of K/Fe₃₋₈₀₀ catalyst

The catalytic stability of K/Fe₃₋₈₀₀ catalyst was carried out through the reuse study. After each cycle of transesterification reaction, the K/Fe₃₋₈₀₀ catalyst was separated from reaction solution by centrifugation, and was reintroduced in a new transesterification reaction, without post-treatment. A significant drop of ethyl esters yield is observed in the 4th cycle of reaction (Fig. 4), indicating a deactivation of the catalyst. The thermogravimetric analysis of reused K/Fe₃₋₈₀₀ were compared with those of biodiesel, glycerol and sunflower oil (Fig. 5). The TG and dTG curves of reused K/Fe₃₋₈₀₀ showed a low weight loss of about 3% between 30 and 200 °C. This loss weight is attributed to adsorbed water and hydroxylated species on the surface of the catalyst. A weight loss of about 8% observed between 200 and 500°C is due to the decomposition of organic compounds. As can be seen in the figure, the decomposition peaks at 284°C, 297°C, 376°C and 464°C are attributable to biodiesel, glycerol, soap and glycerides, respectively. Moreover, the weight loss recorded between 600 and 800 °C is probably caused by the decompositions of inorganic phases, specifically carbonated species (Lamberov et al., 2012). According to Argyle and Bartholom (2015), heterogeneous catalysts deactivation often occurs through several mechanisms. It is evident that the deactivation mechanism of K/Fe₃₋₈₀₀ catalyst was caused by both poisoning of the active sites and/or pore fouling by deposition of the reaction intermediates or final compounds onto the catalyst surface. These phenomena often occur simultaneously when the catalyst is used under non-inert reaction conditions.

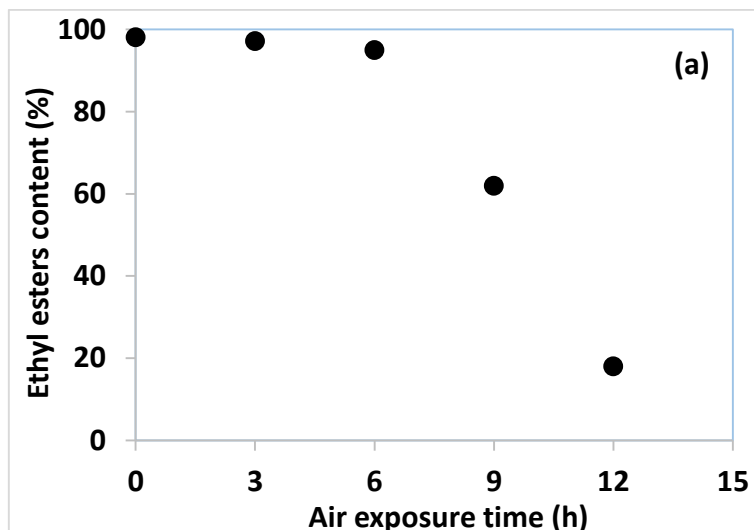
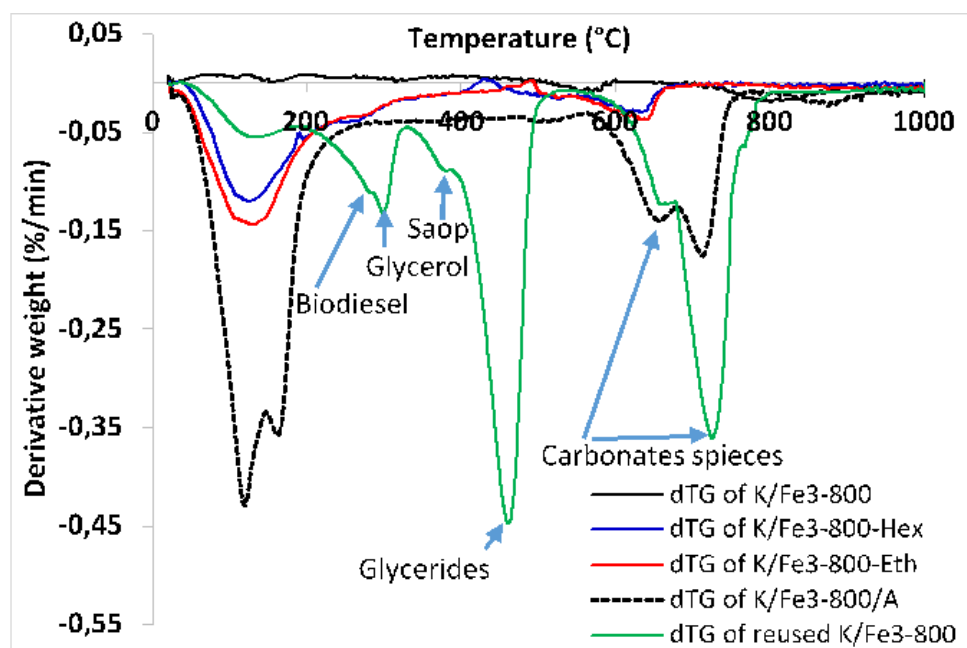


Figure 4: Influence of reusability on K/Fe₃₋₈₀₀ catalytic activity
 (Transesterification conditions: Ethanol-to-oil molar ratio 9 :1, catalyst loading= 5 wt.% (vs oil), reaction temperature = 70°C, reaction time = 45 min, stirring speed 300 rpm).



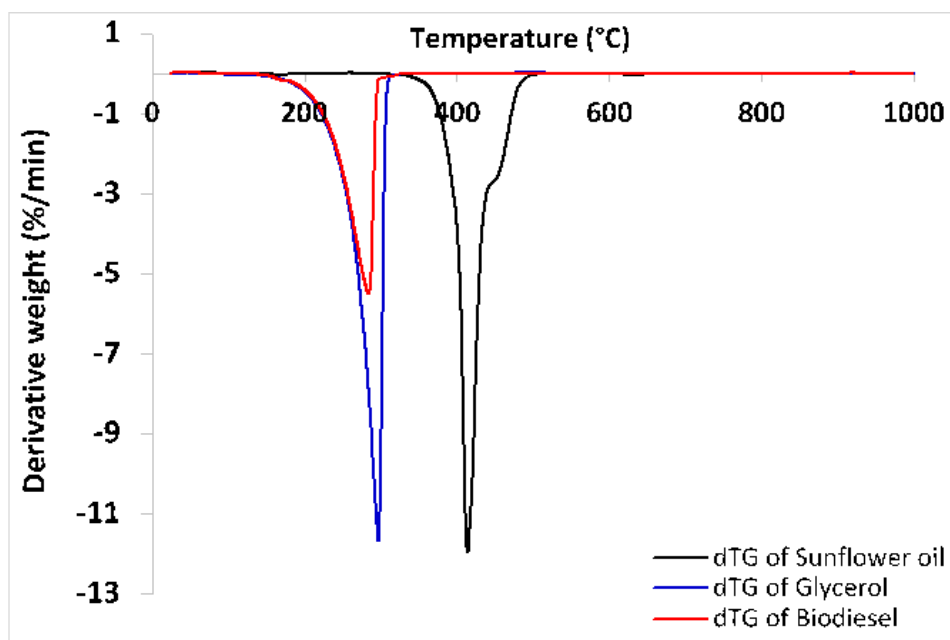


Figure 5: dTG analysis of a) fresh, reused and washed catalysts, and b) reactant and products

3.5. Regeneration of reused K/Fe_{3-800} catalyst

Solvent washing has been used as post treatment method for catalyst regeneration. The reused K/Fe_{3-800} catalyst was collected by centrifugation, washed either with hexane or ethanol and then used for a next transesterification reaction. The yields of ethyl esters obtained were respectively 42.34% and 7.62% (Table 2). The dTG curves of reused $K/Fe_{3-800-Hex}$ and reused $K/Fe_{3-800-Eth}$ show disappearance of the peaks around 200-550°C (fig. 9). Despite removal of organic on the surface of the catalysts, the catalytic performance of reused K/Fe_{3-800} (70.1%) was still higher than both reused $K/Fe_{3-800-Hex}$ (42.34%) and reused $K/Fe_{3-800-Eth}$ (7.62%). These results clearly demonstrate that washing the reused catalyst, in particular with ethanol, led to the leaching of the active phases. Indeed, the hydroxylated and carbonated phases resulting from the active phases deactivation are vulnerable to solvents washing, in particular the polar solvents. This observation is supported by the disappearance of the peaks on the temperature range from 600 to 800°C, which was previously attributed to hydroxylated and carbonated species. That is a possible reason why the reused $K/Fe_{3-800-Hex}$ and $K/Fe_{3-800-Eth}$ catalysts represent a weak catalytic activity rate compared with that of reused K/Fe_{3-800} catalyst.

Since the solvent washing was not effective to reactivate the catalytic performance of reused K/Fe_{3-800} , a thermal treatment was investigated. For this purpose, a thermogravimetric analysis of reused K/Fe_{3-800} catalyst was performed at a heating rate of 10°C/sec with one hour at constant temperature levels of 600, 800 and 900°C (Fig. 6). The TG curves showed weight losses up to 800 °C. After 15 minutes at this constant temperature, no weight loss was recorded up to 900 °C. Based on this analysis, the reused K/Fe_{3-800} catalyst was therefore calcined at 800°C for 1 hour (reused K/Fe_{3-800}^*) and then tested in three successive reactions. The ethyl esters yields are about 97.78%, 95.54% and 73.31% respectively. This found show that 800°C may be used for the restoration of the active phase on the surface of the catalyst.

Table 2: Catalytic performance of reused and regenerated K/Fe_{3-800} catalysts

Entry	Catalyst	Ethyl esters content (%)
1	Reused $K/Fe_{3-800-Eth}$	7.62
2	Reused $K/Fe_{3-800-Hex}$	42.34
3	Reused K/Fe_{3-800}^* (1 st cycle)	97.76
4	Reused K/Fe_{3-800}^* (2 nd cycle)	95.54
5	Reused K/Fe_{3-800}^* (3 rd cycle)	73.31

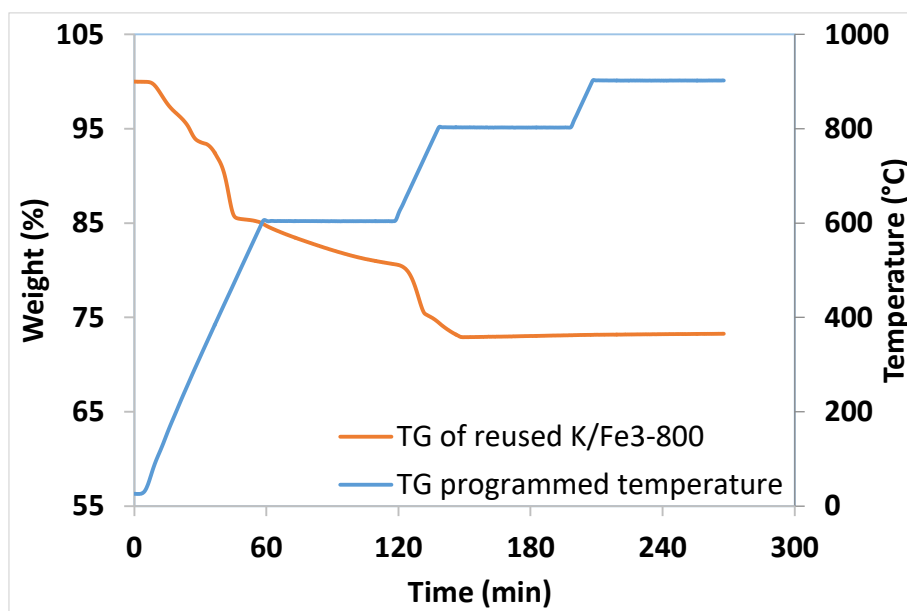


Figure 6: TG analysis of reused K/Fe₃₋₈₀₀ catalyst with temperature steps at 600, 800 and 900°C

4. Conclusion

This study first presents the influence of the calcination temperature and the amount of the potassium on the composition of K/Fe and K/Mn catalysts. It was found that the type of support strongly affects the activity and of the catalyst. The highest ethyl ester content of 98.2% was obtained when the highest basic strength ($15 < H_- < 18.4$) and basicity (1.50 mmol/g) were achieved with 30 wt% K loading on Fe, calcination temperature of 800°C for 2 h, reaction temperatures below 70 °C within 45 min at a 9 :1 molar ratio of ethanol to sunflower oil and a catalyst amount of 5 wt%. The sensitivity of the catalyst to the contaminants was studied, and the results showed a resistance of 1% in moisture and 0.5% in free fatty acid.

Finally, the reuse potential and the stability of the catalyst were investigated and showed that the catalyst may be reused six time with ethyl esters higher than 73%. With regard to the procedure described so far, it can be concluded that K/Fe₃₋₈₀₀ catalyst may be used as a low cost and available material for the production of biodiesel.

References

- ✓ Dias JM, Alvim-Ferraz MCM, Almeida MF, Diaz JDM, Polo MS, Utrilla JR. Biodiesel production using calcium manganese oxide as catalyst and different raw materials. *Energy Convers Manag* 65 (2013) 647–653.
- ✓ Fina F, Menard H, Irvine JTS. The effect of Pt NPs crystallinity and distribution on the photocatalytic activity of Pt-g-C₃N₄. *Phys Chem Chem Phys* 17 (2015) 13929.
- ✓ Hindryawati N, Maniam GP, Karim Md R, Chong KF. Transesterification of used cooking oil over alkali metal (Li, Na, K) supported rice husk silica as potential solid base catalyst. *Eng Sci Technol, Int J* 17 (2014) 95–103.
- ✓ Kaur N and Ali A. Biodiesel production via ethanolsis of jatropha oil using molybdenum impregnated calcium oxide as solid catalyst. *RSC Advances* 5 (2015) 13285–13295.
- ✓ Sievers C, Noda Y, Qi L, Albuquerque EM, Rioux RM, Scott SL. Phenomena affecting catalytic reactions at solid–liquid interfaces. *ACS Catalysis* 6 (2016) 8286–8307.
- ✓ Teo SH, Rashid U, Taufiq-Yap YH. Biodiesel production from crude *Jatropha Curcas* oil using calcium based mixed oxide catalysts. *Fuel* 136 (2014) 244–252.
- ✓ Taufiq-Yap YH, Lee HV, Hussein MZ, Yunus R. Calcium-based mixed oxide catalysts for methanolysis of *Jatropha curcas* oil to biodiesel. *Biomass and Bioenerg* 35 (2011) 827–834.
- ✓ Xue B, Luo J, Zhang F, Fang Z. Biodiesel production from soybean and jatropha oils by magnetic CaFe₂O₄-Ca₂Fe₂O₅-based catalyst. *Energy* 68 (2014) 584–591.

Synthèse et évaluation de l'activité antibactérienne de dérivés du 4,5-diphényl-1*H*-imidazole

Coulibaly Bamoro^{1,2}, Fanté Bamba^{1*}, Aurélie Vallin², Vincent Chagnault²

¹Laboratoire de Constitution et Réaction de la Matière, Université Félix Houphouët-Boigny, 22 BP 582 Abidjan 22, COTE D'IVOIRE

²Laboratoire de Glycochimie, des Antimicrobiens et des Agroressources (LG2A), UMR 7378 CNRS, Université de Picardie Jules Verne, 33 rue Saint Leu, F-80039 Amiens Cedex, France
fante_bamba1@yahoo.fr

Résumé

Les maladies infectieuses figurent aujourd'hui parmi les premières causes de décès dans le monde. Leur prise en charge devient récurrente et s'accroît parce qu'elles sont devenues un problème de santé publique dans toutes les régions africaines. La crise de la COVID-19 a rappelé qu'il est indispensable de s'impliquer dans l'élaboration de nouvelles molécules bioactives en infectiologie. Pour contribuer à cette recherche, nous avons élaboré de nouvelles molécules à visée anti-infectieuse. Ces molécules sont synthétisées par couplage du 4,5-diphényl-1*H*-imidazol-2-thiol avec des bromures de benzyles et des 2-(chlorométhyl)benzimidazoles diversement substitués. Nous avons ainsi obtenu douze dérivés du 4,5-diphényl-1*H*-imidazole dont les structures ont été confirmées par les méthodes spectroscopiques. Dix des composés ont fait l'objet de tests antibactériens contre *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis*. Parmi eux, deux ont montré une bonne activité antibactérienne sur *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis*. Les travaux entrepris nous ont donc permis d'obtenir de nouveaux dérivés dont certains possèdent de bonnes activités antibactériennes. Nous envisageons pour la suite, d'étendre les tests biologiques des dérivés déjà synthétisés aux activités anthelminthiques et antifongiques. Il s'agira de remplacer le benzimidazole de ces dérivés par leurs analogues benzothiazole et benzoxazole puis d'évaluer les activités des nouveaux dérivés ainsi synthétisés.

Mots clés : synthèse ; imidazole ; benzimidazole ; antibactérienne

Synthesis and evaluation of antibacterial activity of 4,5-diphenyl-1*H*-imidazole derivatives

Abstract

Infectious diseases are now among the leading causes of death in the world. Their care becomes recurrent and increases that they have become a public health problem in all African regions. The COVID-19 pandemic has reminded us that we should get involved in the development of new bioactive molecules in infectiology. To contribute to this research, we have developed new anti-infectious molecules. These molecules were synthesized by coupling 4,5-diphenyl-1*H*-imidazole-2-thiol with benzyl bromides and variously substituted 2-(chloromethyl)benzimidazoles. Thus, twelve 4,5-diphenyl-1*H*-imidazole derivatives were obtained, their structures were confirmed by spectroscopic analysis methods. Ten of them were tested to investigate their antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecalis*. Of these least, two showed a good antibacterial activity on *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecalis*. In this work, we were able to obtain new derivatives compounds, some of which have good antibacterial activities. Next, it will be question of extending the biological tests of the already synthesized derivatives to anthelmintic and antifungal activities. It will also necessary to replace the benzimidazole of these derivatives with their benzothiazole and benzoxazole analogues and then evaluate the activities of the novel synthesized derivatives.

Key words: synthesis ; imidazole ; benzimidazole ; antibacterial

1. Introduction

Les maladies infectieuses, ensemble de maladies causées par les micro-organismes pathogènes (bactéries, virus, parasites ou champignons), posent aujourd'hui un problème majeur de santé publique [1,2]. Une étude réalisée en 2014 a révélé l'aggravation des risques causés par les maladies infectieuses d'ici 2025 [3]. Cette étude a également montré que 50% de la population sera soumise au risque de maladies infectieuses émergentes ou ré-émergentes. Celles-ci entraîneront près de 14 millions de morts par an dont la principale sera le paludisme, qui représentera à elle seule 135 à 287 millions de cas et 500 à 800 milles morts par an. Les rapports des cinq dernières années de l'OMS sur la santé dans le monde ont souligné la gravité de la situation. Les maladies infectieuses ont représenté 90% des décès à la fin du 20ème siècle. Face à cette situation, la chimiothérapie reste une des armes essentielles. Mais la perte d'efficacité de certains médicaments utilisés dans les traitements actuels, l'apparition de nouvelles maladies et les phénomènes de pharmaco-résistance des micro-organismes pathogènes pourraient

aggraver cette situation [4]. Il est donc nécessaire et urgent de mettre au point de nouveaux médicaments en particulier ceux qui ont une nouvelle cible et/ou la capacité de surmonter les résistances.

Des travaux de recherches indiquent que les composés ayant le squelette imidazole ou benzimidazole (**Figure 1**) dans leurs structures, possèdent d'excellentes activités telles que : les activités anticancéreuse, anti-inflammatoire, antibactériennes, antivirale, antiparasitaire, anthelminthique etc [5–9].

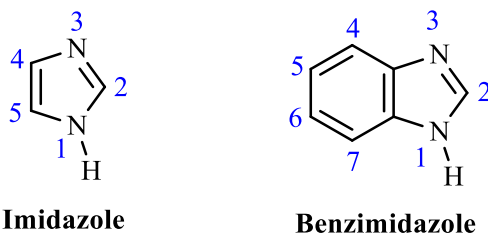


Figure 1 : Structures des noyaux imidazole et benzimidazole

De ce fait, les dérivés de ces noyaux constituent un potentiel atout pour la lutte contre les maladies infectieuses (**Figure 2**).

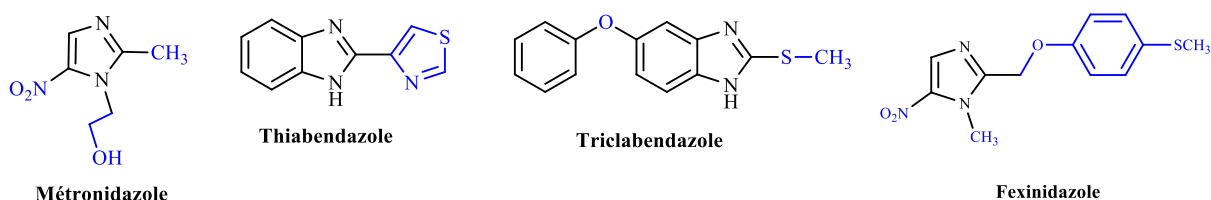


Figure 2 : Structures de quelques dérivés anti-infectieux à support imidazole et benzimidazole

Dans la présente étude, nous avons synthétisé de nouveaux composés antibactériens potentiels à partir de modulations chimiques entreprises en position -2 du 4,5-diphényl-1*H*-imidazol-2-thiol. D'abord, ces composés ont été conceptualisés. Ensuite, nous les avons synthétisés puis caractérisés par les méthodes d'analyses spectroscopiques. Enfin, nous avons évalué leurs activités antibactériennes. Les résultats de ce travail pourraient contribuer à la mise à disposition des praticiens de nouvelles molécules antibactériennes, innovantes et plus efficaces.

2. Matériels et méthodes

2.1. Généralités

Les produits ont été caractérisés par les méthodes d'analyses spectroscopiques. Les spectres de résonance magnétique nucléaire du proton (RMN ¹H) et du carbone (RMN ¹³C) ont été enregistrés à température ambiante sur deux appareils spectromètres BRUCKER DRX (400 MHz et 600 MHz).

Les spectres de masse basse résolution ont été enregistrés sur un appareil simple quadropôle (Micromass-Waters ZQ), équipé d'une source d'ionisation électrospray, d'une gamme de masse de 0 à 400 Da.

Les spectres de masse haute résolution (HRMS) sont réalisés sur un spectromètre de masse hybride quadropôle à temps de vol (Micromass-Waters Q-TOF Ultima global), équipé d'une source d'ionisation électrospray et d'une source MALDI.

Les points de fusion ont été mesurés à l'aide d'un banc de KOFLER.

La purification des produits est effectuée par chromatographie flash sur gel de silice (Silica gel 60) poussé par air comprimé au moyen d'un mélange d'éluant cyclohexane / acétate d'éthyle en proportion variable.

Les chromatographies analytiques sur couche mince (CCM) ont été réalisées pour le suivi des réactions. Elles ont été effectuées sur gel de silice sur support aluminium (plaques commerciales Merck DC-Autofolien Kieselgel 60 F254, épaisseur de silice 0,2 mm en phase normale). Les produits sont ensuite révélés selon la méthode de fluorescence dans l'ultraviolet (longueur d'onde 254 nanomètre).

Les solvants et les réactifs utilisés proviennent de chez Acros Organique (France), Sigma Aldrich (France), FluoroChem (USA) et Polychimie (Cote d'Ivoire).

Les tests antibactériens des composés synthétisés ont été évalués contre *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), *Escherichia coli* (*E. coli*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) et *Escherichia faecalis* (*E. faecalis*). La méthode utilisée est la microméthode en milieu liquide réalisé dans une plaque 96 puits[10]. La ciprofloxacine a été utilisé comme molécule référence.

Toutes les analyses spectroscopiques et les tests biologiques sont réalisées au Laboratoire de Glycochimie, des Antimicrobiens et des Agrorésources (LG2A) de l'Université de Picardie Jules Vernes, Amiens (France).

2.2. Méthode de synthèse du 4,5-diphényl-1*H*-imidazol-2-thiol **1**

Méthode 1 : Un mélange de benzoïne (5g ; 23,58 mmol) et de thiourée (7,2g ; 94,34 mmol) est broyé au mortier puis porté à fusion (180°C) pendant 1 heure. Après refroidissement du milieu réactionnel, le produit cristallise. Ce dernier est lavé plusieurs fois à l'eau puis filtré sur fritté, séché à l'air libre et recristallisé dans le diméthylformamide (DMF). Le brut obtenu est filtré à nouveau et lavé au cyclohexane pour donner le composé **1**.

Méthode 2 : A une solution de benzoïne (5g ; 23,58 mmol) dans du diméthylformamide, est ajoutée la thiourée (7,2g ; 94,34 mmol). La solution est portée sous agitation et à reflux pendant 2 heures. Après refroidissement, le produit précipite. Quelques morceaux de glace y sont ajoutés et le précipité est filtré sur Buchner. Les cristaux sont lavés plusieurs fois à l'eau puis séchés à l'air libre. Le brut est recristallisé dans le diméthylformamide (DMF) pour donner le composé **1**.

2.3. Méthode de synthèse des dérivés 2-(benzylthio)-4,5-diphényl-1*H*-imidazoles **2a-g**

A une solution du composé **1** (2 g ; 7,94 mmol) dans l'éthanol absolu (20 mL), est ajouté du bromure de benzyle ou dérivés (1,2 éq). Le mélange est porté à reflux pendant 3 heures. Après refroidissement, le milieu réactionnel est neutralisé avec une solution d'hydrogénocarbonate de sodium (5%). Le mélange est dilué dans l'acétate d'éthyle puis lavé plusieurs fois à l'eau. La phase organique est séchée sur du sulfate de sodium et le solvant est évaporé sous pression réduite au rotarvapor. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 30/70) pour isoler les composés **2a-g** souhaités.

2.4. Méthode de synthèse des 2-(chlorométhyl)-1*H*-benzimidazoles **3a-e**

Les 2-chlorométhylbenzimidazoles sont préparés selon la méthode classique de synthèse des benzimidazoles développée par Phillips[11].

A une solution d'orthophénylènediamine ou dérivés (1g) dans 10 mL d'acide chlorhydrique (4N), sont ajoutés 1,5 équivalents d'acide chloroacétique. Le mélange est chauffé à reflux pendant 15 heures. Après refroidissement, le milieu réactionnel est neutralisé par une solution d'hydrogénocarbonate de sodium (5%). Le mélange est dilué dans l'acétate d'éthyle puis lavé plusieurs fois à l'eau. La phase organique est séchée sur du sulfate de sodium et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 30/70) pour donner les composés **3a-e**.

2.5. Méthode de synthèse des dérivés 2-[(benzimidazolyl)méthylthio]-4,5-diphényl-1*H*-imidazoles **4a-e**

A une solution du composé **1** (1g ; 3,97 mmol) dans 20 mL d'éthanol absolu, est ajouté le 2-chlorométhylbenzimidazole ou dérivés **3a-e** (1.5éq). Le mélange est porté à reflux pendant 3 heures. Après refroidissement, le milieu réactionnel est neutralisé avec une solution d'hydrogénocarbonate de sodium (5%). Le mélange est dilué dans l'acétate d'éthyle puis lavé plusieurs fois avec de l'eau. La phase organique est séchée sur du sulfate de sodium et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle : 20/80) pour aboutir aux composés **4a-e** attendus.

3. Résultats et discussion

Ce travail de recherche est une contribution à la lutte contre les résistances de certaines bactéries par l'élaboration de dérivés du 2-(benzylthio)-4,5-diphényl-1*H*-imidazoles et du 2-(benzimidazolylméthylthio)-4,5-diphényl-1*H*-imidazoles.

3.1. 4,5-diphényl-1*H*-imidazol-2-thiol **1**

Le 4,5-diphényl-1*H*-imidazol-2-thiol **1** est préparé à partir d'une réaction de cyclocondensation entre la benzoïne et la thiourée. Il est obtenu avec un rendement de 51% par la **Méthode 1** et 70% par la **Méthode 2** (**Schéma 1**).

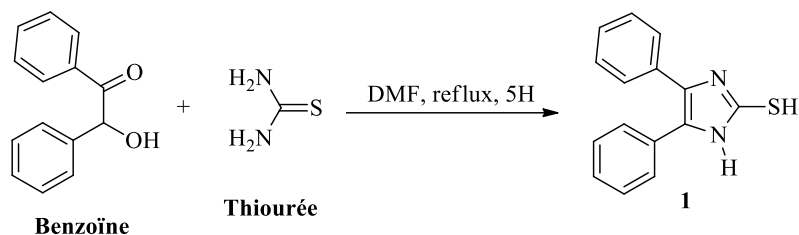


Schéma 1: Synthèse du 4,5-diphényl-1*H*-imidazole **1**

Le composé **1** est caractérisé en RMN ^1H par l'apparition des signaux entre 7,20 et 7,02 ppm correspondant aux protons des noyaux benzéniques. On note également la présence de deux singulets à 12,51 et 3,50 attribuables respectivement aux protons de l'atome d'azote (NH) et du soufre (SH). Les bandes observées à 3145 cm^{-1} et 1668 cm^{-1} en infrarouge indiquent la présence des groupes (NH) et C=N.

3.2. Dérivés 2-(benzylthio)-4,5-diphényl-1*H*-imidazole **2a-g**

Les dérivés 2-(benzylthio)-4,5-diphényl-1*H*-imidazole **2a-g** sont préparés, à partir d'une réaction de substitution nucléophile ($\text{S}_\text{N}2$) entre le 4,5-diphényl-1*H*-imidazol-2-thiol et les bromures de benzyles diversement substitués dans l'éthanol absolu. Les composés **2a-g** sont isolés avec des rendements allant de 71 à 85% (**Schéma 2**).

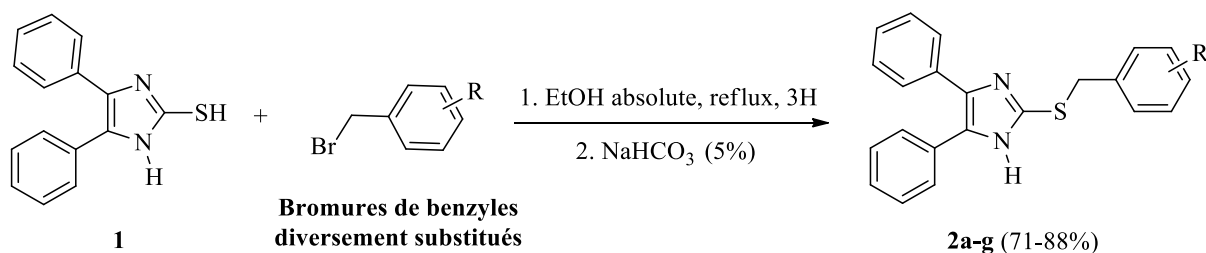


Schéma 2: Synthèse des dérivés 2-(benzylthio)-4,5-diphényl-1*H*-imidazole **2a-g**

Les structures de ces composés ont été confirmées par les méthodes d'analyses spectroscopiques. En effet, on remarque sur l'ensemble des spectres en RMN ^1H des composés **2a-g** la disparition du signal à 3,5 ppm correspondant au proton porté par l'atome de soufre (SH) du composé **1**. On note en revanche l'apparition de pics compris entre 4,33 ppm et 4,60 ppm attribuables aux protons du groupe thiométhyle (SCH_2). Ceci montre bien la substitution sur l'atome de soufre.

De plus, la corrélation HMBC entre les protons des groupes thiométhylènes (SCH_2) et les carbones iminiques (C=N) confirme le couplage des deux entités.

Enfin, les formules brutes des composés **2a-g** sont confirmées par la spectrométrie de masse haute résolution (HMRS).

Les points de fusion et rendements des différents composés **2a-g** synthétisés sont répertoriés dans le tableau ci-dessous (**tableau 1**).

Tableau 30 : Points de fusion et rendements des 2-(benzylthio)-4,5-diphényl-1*H*-imidazole **2a-g**

Produits	R	Point de fusion	Rendements
2a	4-H	186°C	85%
2b	4-NO ₂	168°C	71%
2c	4-CF ₃	182°C	73%
2d	4-Cl	150°C	78%

2e	4-CH ₃	164°C	81%
2f	4-F	160°C	88%
2g	2,4-dichloro	178°C	76%

3.3. 2-(chlorométhyl)-1H-benzimidazoles **3a-e**

Les 2-(chlorométhyl)-1H-benzimidazoles **3a-e** sont préparés à partir d'une réaction de cyclocondensation entre l'orthophénylènediamine ou ses dérivés et l'acide 2-chloroacétique. Ils sont isolés avec des rendements variant de 69% à 83% (**Schéma 3**).

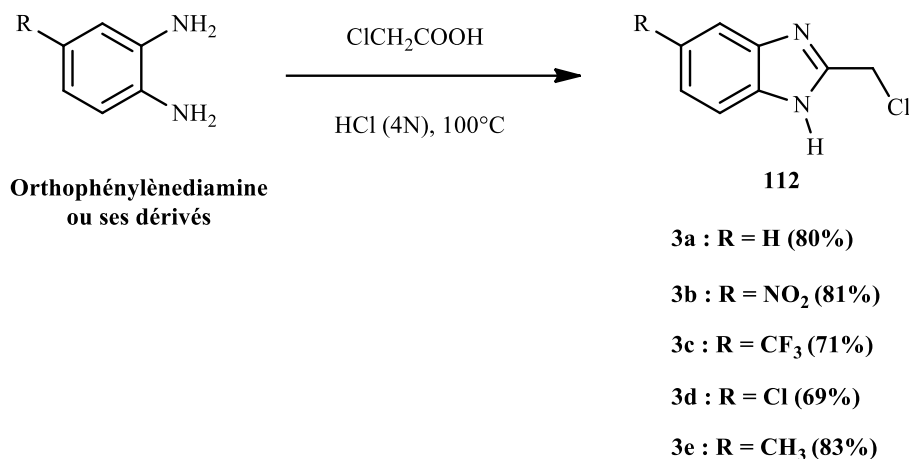


Schéma 3: Synthèse des 2-(chlorométhyl)-1H-benzimidazoles **3a-e**

Les interprétations RMN des composés **3a-e** sont conformes à celles de la littérature [11,12].

3.4. Dérivés 2-[(benzimidazolyl)méthylthio]-4,5-diphényl-1H-imidazoles **4a-e**

Les dérivés 2-[(benzimidazolyl)méthylthio]-4,5-diphényl-1H-imidazoles **4a-e** sont obtenus avec des rendements variant de 66 à 78% en utilisant les mêmes conditions de synthèse des composés **2a-g**. (**schéma 4**).

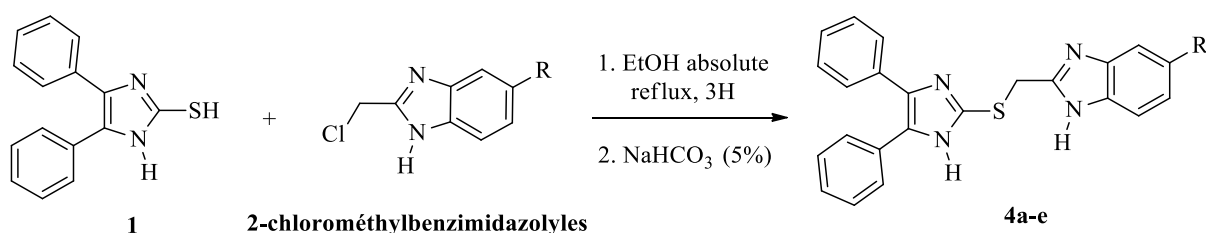


Schéma 4: Synthèse des 2-[(benzimidazolyl)méthylthio]-4,5-diphényl-1H-imidazoles **4a-e**

Les spectres de résonance magnétique nucléaire du proton (RMN ¹H) et du carbone (RMN ¹³C) ainsi que les analyses en spectrométrie de masse haute résolution (HRMS) ont permis de confirmer les structures des composés **4a-e**. Sur l'ensemble des spectres en RMN ¹H des composés **4a-e**, on constate la disparition à 3,5 ppm du pic du proton de l'atome de soufre (SH) du composé **1** et l'apparition d'un nouveau pic entre 4,58 et 4,66 ppm caractérisant les protons du groupe thiométhylène (SCH₂). On remarque également un accroissement des protons aromatiques. Ceci montre bien que la S-substitution a été effectuée.

Aussi, la corrélation HMBC entre les protons des groupes thiométhylènes (SCH₂) et les carbones iminiques (C=N) confirme le couplage des deux entités.

Enfin, les structure du composés **4a-e** sont confirmées par la spectrométrie de masse haute résolution (HMRS). Elle donne des pics correspondant à leur masse moléculaire.

Le **tableau 2** répertorie les points de fusion et les rendements des différents composés **4a-e** synthétisés.

Tableau 2 : Points de fusion et rendements des 2-[(benzimidazolyl)méthylthio]-4,5-diphényl-1H-imidazoles 4a-e

Produits	R	Point de fusion	Rendements
4a	H	252°C	76%
4b	NO ₂	260-266°C	68%
4c	CF ₃	220°C	70%
4d	Cl	248°C	66%
4e	CH ₃	250°C	78%

3.3. Analyse des spectres des composés 4a-e: cas du composé 4a

Sur le spectre RMN ¹H du composé **4a**, on observe la présence d'un singulet d'intégration 2H à 4,62 ppm caractérisant les protons du groupe thiométhylène (SCH₂). Les protons des cycles benzéniques résonnent sous la forme de deux multiplets d'intégration 14H dans les intervalles 7,29-7,47 ppm et 7,16-7,19 ppm tandis que les deux protons des azotes pyrroliques (NH) apparaissent sous la forme de deux singulets à 12,62 ppm et 12,92 ppm.

En RMN ¹³C, on note la présence des carbones des groupes thiométhylène (SCH₂) à 30,57 ppm et ceux des groupes imines (C=N) à 139,30 et 151,13 ppm.

Le couplage des deux noyaux est prouvé par la corrélation en HMBC entre les protons des groupes thiométhylène (SCH₂) et les carbones iminiques (C=N).

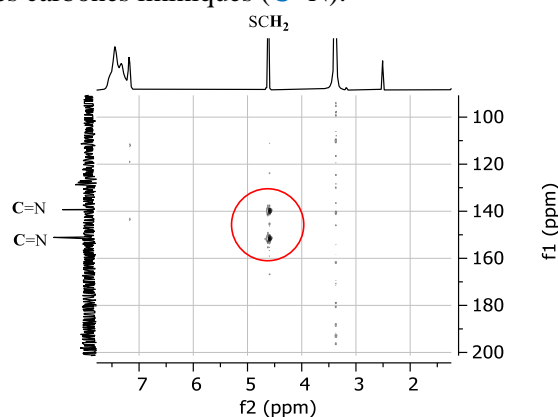


Figure 3 : Portion du spectre HMBC du composé 4a

La spectrométrie de masse haute résolution confirme la structure du composé **4a** avec un pic à $m/z = 383,1346$ en accord avec la masse du composé protoné C₂₃H₁₉N₄S [M+H]⁺.

3.3. Évaluation des activités antibactériennes

Dix composés synthétisés ont fait l'objet de tests biologiques sur *P. aeruginosa*; *E. coli*; *S. aureus* et *E. faecalis*.

Les résultats des Concentrations Minimales d'Inhibition (CMI) des composés testés sont consignés dans le .

Tableau 8.

L'analyse des résultats des tests biologiques indique qu'aucun des composés testés ne possède une activité antibactérienne sur les souches *P. aeruginosa* et *E. coli*, les bactéries à gram négatif. Cependant, on note la présence d'activité sur les souches *S. aureus* et *E. faecalis* pour les composés **4d** et **4c**. En effet, le composé **4d** (CMI = 16 µg/ml) a montré une activité 2 fois inférieure à celle de la ciprofloxacine (CMI = 4 µg/ml) sur *S. aureus*. Le même composé **4d** (CMI = 16 µg/ml) a présenté une faible activité sur *E. faecalis* comparativement à la ciprofloxacine (CMI = 0,5 µg/ml). Le meilleur résultat est obtenu avec le composé **4c** (CMI = 4 µg/mL) qui a montré une activité 2 fois supérieure à celle de la ciprofloxacine (CMI = 8 µg/mL) sur *S. aureus*.

Tableau 31 : Activités antibactériennes des composés 2a-e et 4a-e

Numéros des composés	CMI: Concentration Minimum d'Inhibition (µg/mL)			
	Bactéries à Gram négatif		Bactéries à Gram positif	
	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>
2a	–	–	–	–
2b	–	–	–	–
2c	–	–	–	–
2d	–	–	–	–
2e	–	–	–	–
4a	–	–	–	–
4b	–	–	–	–
4c	–	–	4	–
4d	–	–	16	16
4e	–	–	–	–
Ciprofloxacine	0,25	0,063	8	0,5

- Pas d'activité

4. Conclusion

Ce travail réalisé a permis l'obtention de douze composés, dérivés du 4,5-diphényl-*1H*-imidazoles. Dix composés ont fait l'objet de tests antibactériens sur quatre souches bactériennes pathogènes (*P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus* et *E. faecalis*). Parmi eux, deux ont montré une bonne activité antibactérienne contre *S. aureus* et *E. faecalis*^[13].

En perspective, nous envisageons :

Evaluer les activités des dérivés 2-(benzylthio)-4,5-diphényl-*1H*-imidazoles et 2-[(benzimidazolyl)méthylthio]-4,5-diphényl-*1H*-imidazoles sur d'autres germes infectieux notamment sur candida albicans.

Alkyler la position -1 des 2-(benzylthio)-4,5-diphényl-*1H*-imidazoles.

Remplacer le benzimidazole des dérivés 2-[(benzimidazolyl)méthylthio]-4,5-diphényl-*1H*-imidazoles par les analogues benzothiazole et benzoxazole.

Evaluer les activités biologiques de ces nouveaux composés.

5. Bibliographie

- [1] T. Peláez, E. Cercenado, L. Alcalá, M. Marín, A. Martín-López, J. Martínez-Alarcón, P. Catalán, M. Sánchez-Somolinos, E. Bouza, *Journal of clinical microbiology* **2008**, *46*, 3028.
- [2] H. Pituch, P. Obuch-Woszczatyński, D. Wultańska, F. Meisel-Mikołajczyk, M. Luczak, *Anaerobe* **2005**, *11*, 197.
- [3] J. BOURGINE, B. LECLERC, P. MONFORT, G. LACOUR, C. CAMINADE, C. VIGNOLLES, A.-B. FAILLOUX, C. PACTEAU, A. LEBLOND, .
- [4] O. mondiale de la Santé, *La résistance aux antimicrobiens dans la Région de la Méditerranée orientale*, **2017**, *الم ت وسط ل شرق الإق ل يمي الامك تب ال عالم ية، ال صحة منظمة*.
- [5] E. D. Deeks, *Drugs* **2019**, *79*, 215.
- [6] A. ADJOU, A. TOURÉ, A. YAPI, L. OUATTARA, *J. sci* **2010**, *11*, 40.
- [7] M. Ouattara, D. Sissouma, W. Yavo, M. Kone, *Int. J. Bio. Chem. Sci* **2015**, *9*, 1697.
- [8] S. J. Akpa, M. V. Say, R. S. P. Zoakouma, B. Fanté, D. Sissouma, A. Adjou, *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* **2016**, *10*, 670.
- [9] P. T. Manju, A. A. Smith, V. Padmaja, *INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES AND RESEARCH* **2018**, *9*, 3705.
- [10] A. Thabaut, J. L. Durosoir, *Médecine et Maladies Infectieuses* **1979**, *9*, 490.
- [11] B. Mahdavi, M. Rahimizadeh, M. Bakavoli, *JJC* **2013**, *8*, 63.
- [12] S. J. Tangeda, A. B. Sandala, A. Garlapati, *Pharmacophore* **2014**, *5*, 417.

[13] C. Bamoro, F. Bamba, K. T. D. Steve-Evanes, V. Aurélie, C. Vincent, *Open Journal of Medicinal Chemistry* **2021**, *11*, 17.

Composition chimique et propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques du Burkina Faso

Anass Coulibaly¹, Ignace Sawadogo¹, Mahomed Toé¹, Delphine M. Hema¹, Martin Kiendrebeogo², Roger C.H Néblié¹

¹Institut de Recherche en Sciences Appliquées et Technologies (IRSAT), Département Substances Naturelles, 03 BP 7047 Ouagadougou 03, Burkina Faso

²Laboratoire de Biochimie et de Chimie Appliquées (LA.BIO.CA), UFR/SVT, Université Joseph KI-ZERBO, 09 BP 848 Ouagadougou 09, Burkina Faso

Résumé

L'objectif de la présente étude était de contribuer à la valorisation des huiles essentielles au Burkina Faso. La composition chimique et les paramètres physico-chimiques des huiles essentielles de *Ocimum. americanum* L., *Ocimum. gratissimum* L. et de *Lippia multiflora* Mold. ont été déterminés. L'analyse des huiles a été faite par GC-MS et Les paramètres physico-chimiques ont été déterminés selon le protocole décrit dans les normes internationales ISO 279-1998 [1], ISO 1242-1999 [2], ISO 709-2001 [3] et ISO 280-1998 [4] respectivement pour la densité relative, l'indice d'acide, l'indice d'ester et l'indice de réfraction. L'étude a révélé la présence de 1,8 cinéole (41,42%), camphre (10,87%) et de l' α -pinène (9,63%) comme principaux constituants de l'huile essentielle de *O. americanum*. L'huile essentielle de *O. gratissimum* se composait principalement de thymol (29,5 %), γ -terpinène (20,5 %) et de p-cymène (12,9 %). Le p-cymène (25,38%), bêta-caryophyllène (12,965%), γ -terpinène (9,46%) et le thymol (8,41%) étaient majoritairement présents dans l'huile essentielle de *L. multiflora*. Les paramètres physico-chimiques tels que la densité relative, l'indice d'acide, l'indice d'ester et l'indice de réfraction ont été étudiés. Ces résultats pourraient constituer une étude préliminaire pour l'établissement de normes en matière d'huiles essentielles au Burkina Faso.

Mots clés : Huile essentielle ; composition chimique ; propriétés physico-chimiques.

Abstract

The objective of this study was to contribute to the valorisation of essential oils in Burkina Faso. The chemical composition and physical-chemical parameters of the essential oils of *Ocimum. americanum* L., *Ocimum. gratissimum* L. and *Lippia multiflora* Mold. were determined. The analysis of the oils was done by GC-MS and the physical-chemical parameters were determined according to the protocol described in the international standards ISO 279-1998 [1], ISO 1242-1999 [2], ISO 709-2001 [3] and ISO 280-1998 [4] respectively for relative density, acid index, ester index and refractive index. The study revealed the presence of 1,8-cineole (41.42%), camphor (10.87%) and α -pinene (9.63%) as the main constituents of the essential oil of *O. americanum*. The essential oil of *O. gratissimum* consisted mainly of thymol (29.5%), γ -terpinene (20.5%) and p-cymene (12.9%). The p-cymene (25.38%), beta-caryophyllene (12.965%), γ -terpinene (9.46%) and thymol (8.41%) were predominantly present in the essential oil of *L. multiflora*. Physical-chemical parameters such as relative density, acid index, ester index and refractive index were studied. These results could constitute a preliminary study for the establishment of essential oil standards in Burkina Faso.

Key words : Essential oil ; chemical composition ; physical-chemical properties.

Introduction

Les huiles essentielles sont largement utilisées aujourd'hui pour leurs propriétés anti-infectieuses, analgésiques, anti-inflammatoires, sédatives, antimicrobiennes, antispasmodiques et antioxydantes, analgésiques, insecticides, antifongiques, acaricides [5,6,7]. Elles sont recherchées pour leurs applications dans l'alimentation, les parfums, les cosmétiques, l'aromathérapie, les produits pharmaceutiques et autres. En 2018, le marché mondial des huiles essentielles a été estimé entre 7 et 8 milliards de dollars US. En outre, ce marché devrait croître de 9,6 % et atteindre une valeur de 27,49 milliards de dollars américains d'ici la fin de 2022 [8]. L'Afrique dispose d'un énorme potentiel pour la production d'huile essentielle à partir de plantes aromatiques. Ce produit est plus connu dans la partie nord du continent, mais malheureusement la part de l'Afrique sur le marché mondial des huiles essentielles reste faible. Il est donc important de créer un environnement favorable à la production et à la commercialisation des huiles essentielles afin de profiter de ce vaste marché. *O. americanum* L., *O. gratissimum* L. et *L. multiflora* Mold. sont trois plantes aromatiques présentes au Burkina Faso dont les huiles essentielles ont des usages et des activités biologiques variés. En effet, l'huile essentielle de *L. multiflora* est utilisée par les industries agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique [9,10,11] et

possède des propriétés insecticides [12], bactériostatiques [13] et acaricides [14]. Pour *O. americanum*, communément appelé "*Ocimum canum*", son huile essentielle présente des activités insecticides [15], antimicrobiennes [16], anticholinestérasiques et répulsives [17]. Quant à *O. gratissimum*, des activités acaricides [18] et insecticides [19] ont été attribuées à son huile essentielle. L'objectif de la présente étude est de contribuer au développement du potentiel économique des trois huiles essentielles (*O. americanum*, *O. gratissimum* et *L. multiflora*) notamment en déterminant leurs compositions chimiques et certains paramètres physico-chimiques. La connaissance des paramètres physico-chimiques est un moyen important pour vérifier et contrôler la qualité des huiles essentielles.

2. Matériaux et méthodes

2.1 Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de parties aériennes (tiges, feuilles et fleurs) de *O. gratissimum* L, *O. americanum* L et *L. multiflora* Mold. collectées en septembre 2021 dans la région du Centre du Burkina Faso (12°25'17" Nord et 1°29'14" Ouest). Un spécimen de chaque plante a été authentifié et déposé dans l'herbier de l'Université Joseph KI-ZERBO sous les numéros 6953 pour *O. gratissimum*, 6950 pour *O. americanum* et 6931 pour *L. multiflora*.

2.2 Extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont été obtenues par distillation pendant 3 heures à partir de la matière végétale fraîche à l'aide d'un extracteur de type Clevenger. Les huiles essentielles obtenues ont ensuite été séchées sur sulfate de sodium anhydre et conservées dans des flacons ambrés à 4°C à l'abri de la lumière jusqu'à leur utilisation. La formule suivante a été utilisée pour calculer la valeur de rendement (R) de l'huile essentielle pour chaque plante :

$$R (\%) = \frac{\text{Essential oil mass (g)}}{\text{Mass of plant material (g)}} \times 100$$

2.3 Paramètres physico-chimiques des huiles essentielles

Les paramètres physico-chimiques ont été déterminés selon le protocole décrit dans les normes internationales [1], [2], [3] et [4] respectivement pour la densité relative, l'indice d'acide, l'indice d'ester et l'indice de réfraction. Pour chaque paramètre, 3 répétitions ont été effectuées.

2.4 Analyse chimique des huiles essentielles

La composition chimique des huiles essentielles a été déterminée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse (GC) Hewlett Packard Model 5890A et un spectromètre de masse (MS) Hewlett Packard Model 5989A. Le GC était équipé d'une colonne HP-5. L'hélium a été utilisé comme gaz porteur à un débit de 1 mL/min. La température de l'injecteur était de 250 °C. La température du four a été programmée de 50 °C à 250 °C à 10 °C/min et finalement maintenue de façon isotherme pendant 15 minutes. Pour la détection GC-MS, un système d'ionisation électronique avec une énergie d'ionisation de 70 eV a été utilisé. Un taux de balayage de 0,5 s (temps de cycle : 0,2 s) a été appliqué couvrant une gamme de masse de 50-400 amu.

3. Résultats et discussion

3.1. Rendement des huiles essentielles

Dans la présente étude, le rendement en huile essentielle de *O. gratissimum* était de 0,97 % (tableau I). Au Bénin, Kpoviessi et al. [20] ont montré qu'une plante en pré-floraison et floraison de *O. gratissimum* avait des rendements en huile essentielle de 0,71 et 0,78% respectivement. Cela montre que l'âge de la plante peut influencer le rendement en huile essentielle. Par contre, toujours au Bénin, Adjou et al. [21] ont montré une teneur en huile essentielle dans les feuilles fraîches de *O. gratissimum* plus élevée que dans notre étude qui est de 1,24%. Ceci montre que le rendement en huile essentielle peut varier en fonction de la zone géographique. Pour *O. americanum* le rendement en huile essentielle obtenu avec les parties aériennes fraîches de la plante était de 0,78 % (Tableau I). D'autres études au Burkina Faso [22] et au Bénin [23] ont montré des teneurs en huile essentielle respectivement plus élevées mais avec des feuilles séchées de la plante. Cette différence dans la teneur en huile essentielle pourrait probablement être expliquée par l'effet du séchage. Pour *L. multiflora*, la teneur en huile essentielle des parties aériennes fraîches de la plante était de 0,89% (Tableau I). Au Burkina Faso, Bassolé et al.[24]

ont trouvé un rendement plus élevé (2,25%) que dans notre étude avec des feuilles séchées. Ce résultat pourrait également être lié à l'effet du séchage.

Table I : Rendement des huiles essentielles

Espèces	Lieu de récolte	Période de récolte	Rendement (%)
<i>O. gratissimum</i>	Ouagadougou	September 2021	0,92 ± 0,02
<i>O. americanum</i>	Ouagadougou	September 2021	0,78 ± 0,07
<i>L. multiflora</i>	Ouagadougou	September 2021	0,89 ± 0,03

3.2 Paramètres physico-chimiques

Les valeurs de densité obtenues dans la présente étude étaient de 0,90 pour *O. americanum* et de 0,89 pour *O. gratissimum* et *L. multiflora* (Tableau II). Ces trois valeurs sont inférieures à 1, qui est la densité de l'eau. Ceci constitue un critère de bonne qualité de nos huiles essentielles [25]. Ce résultat est confirmé au Nigeria pour l'huile essentielle de *O. gratissimum* à travers les travaux de Gbenga et al. [26] qui ont obtenu le même résultat. De même, en Côte d'Ivoire, Kanko et al. [27] ont trouvé une densité proche de celle de notre étude pour l'huile essentielle extraite des feuilles (0,88) et des fleurs (0,87) de *L. multiflora*. En Inde, Wouatsa et al. [28] ont trouvé une densité de l'huile essentielle de *O. americanum* (0,91) qui est également proche de notre étude. L'indice d'acide donne une idée sur la teneur en acides libres des huiles essentielles. Les valeurs obtenues dans notre étude sont de 0,42 pour *O. americanum* et *L. multiflora* et de 0,11 pour *O. gratissimum* (Tableau II). Ces valeurs sont inférieures à 2. Ceci est une indication de la bonne conservation de nos huiles essentielles [27]. Les indices d'esters étaient respectivement de 83,83, 14,25 et 524,64 dans la présente étude pour les huiles essentielles de *O. americanum*, *O. gratissimum* et *L. multiflora* (Tableau II). Huong et al. [29] ont rapporté un indice ester de 14,745 proche de celui de notre étude pour l'huile essentielle de *O. gratissimum*. Par contre, Gbenga et al [26] ont rapporté un indice ester de 19,074 pour l'huile essentielle de *O. gratissimum* qui est plus élevé que celui de notre étude. Les valeurs de indices réfraction étaient respectivement de 1,345, 1,334 et 1,377 pour les huiles essentielles de *O. americanum*, *O. gratissimum* et *L. multiflora* (Tableau II). Les valeurs obtenues sont faibles car proche de celle de l'eau. Cela indique que ces huiles ont une faible réfraction de la lumière ce qui pourrait favoriser leur utilisation dans les produits cosmétiques [30].

Table II : paramètres physico-chimiques des huiles essentielles

Huile essentielle	Densité relative (d) at 22° C	IA (mg ode KOH / g d'HE)	IE (mg of KOH / g of EO)	Indice de réfraction (IR)
<i>O. gratissimum</i>	0.89 ± 0.04	0.11 ± 0.01	186.25 ± 0.3	1.334 ± 0.21
<i>L. multiflora</i>	0.89 ± 0.02	0.42 ± 0.03	524.64 ± 0.9	1.377 ± 0.83
<i>O. americanum</i>	0.90 ± 0.08	0.42 ± 0.01	83.83 ± 4.6	1.345 ± 0.62

IA = Indice d'acide ; **IE** = Indice d'ester ; **HE** = Huile Essentielle ; **KOH** = Hydroxyde de Potassium

3.3 Composition chimique des huiles essentielles

Les résultats de l'analyse chimique des huiles essentielles sont présentés dans le tableau III. Pour *O. gratissimum*, thymol (29,5 %), le p-cymène (12,9%) et le γ -terpinène (20,5%) étaient les composés prédominants identifiés. D'autres études ont rapporté la présence des mêmes constituants dans l'huile essentielle de *O. gratissimum* mais dans des proportions différentes de notre étude [31,32 ,33]. Cependant, une étude menée au Brésil montre un autre chémotype d'huile essentielle de *O. gratissimum* avec l'eugénol (74,83 %) et le 1,8 cinéole (15,16 %) comme composés majeurs [34]. Pour l'huile essentielle de *O. americanum*, le 1,8 cinéole (41,42%), le camphre (10,87%) et l'alpha-pinène (9,63%) étaient les composés majeurs de l'huile essentielle. Ces résultats sont en accord avec ceux de Djibo et al.[22]. Des études précédentes montrent également plusieurs chémotypes dans cette huile essentielle au Bénin [23] au Brésil [35], au Cameroun [36] et en Inde [37]. Le p-cymène (25,38%), le bêta-caryophyllène (12,96%), le γ -terpinène (9,46%) et le thymol (8,41%) étaient les principaux constituants de l'huile essentielle de *L. multiflora*. Ce résultat est similaire à celui obtenu par Bassolé et al. [24].

D'autres chémotypes ont également été trouvés pour l'huile essentielle de *L. multiflora* en Côte d'Ivoire [27,38] et en Angola [39]. Les différences observées dans la composition chimique des trois huiles essentielles pourraient s'expliquer par divers facteurs dont le climat, la disponibilité de l'eau, la localisation géographique, la méthode d'extraction de l'huile essentielle, l'âge de la plante, la période de récolte, la nature du sol et les conditions de culture de la plante [40,41,42].

Tableau III : Composition chimique des huiles essentielles

Constituants chimiques	Pourcentage des constituants chimique des l'huile essentielle (%)		
	<i>O. americanum</i>	<i>O. gratissimum</i>	<i>L. multiflora</i>
(E)-Beta-ocimene	-	-	1.173
Delta-2-carene	0.150	-	-
P-cymene	1.305	12.9	25.381
Limonene	4.772	-	1.375
γ -terpinène	-	20.5	9.469
Terpinolene	0.184	-	0.148
Linalool	0.742	-	0.181
1.8 - cineole	41.424	-	4.539
Thymol	-	29.5	8.415
Carvacrole	-	-	1.110
Thymyl acetate	-	-	5.916
Carvacryl acetate	-	-	0.258
Camphre	10.837	-	0.345
Terpinene-4-ol	0.615	-	0.374
Sabinene Cis-Hydrate	0.296	-	0.143
Octene-3-yl acetate	0.642	-	-
Delta-terpineol	0.378	-	-
Alpha-terpineol	1.772	-	0.378
Fenchyl acetate Endo	0.11	-	-
Piperitone	0.575	-	-
Alpha-copaene	0.162	-	0.238
Beta -elemene	0.171	-	0.235
Beta-copaene	-	-	0.067
Beta-caryophyllene	2.422	3.9	12.965
Alpha-Trans-Bergamotene	3.691	-	-
(Z)-Beta-farnesene	0.112	-	1.433
Alpha-humulene	0.164	-	1.742
Allo-aromadendrene	-	-	0.312
Gamma-muurolene	-	-	0.100
Germacrene-D	0.081	4.7	2.197

4. Conclusion

La présente étude a permis de déterminer la composition chimique et les paramètres physico-chimiques des huiles essentielles de trois plantes aromatiques du Burkina Faso : *O. americanum*, *O. gratissimum* et *L. multiflora*. L'analyse chimique des huiles essentielles a montré principalement la présence de composés monoterpéniques dans les trois huiles essentielles. Les paramètres physico-chimiques déterminés permettent une appréciation positive des trois huiles essentielles étudiées. Lors d'une étude ultérieure, il serait intéressant d'approfondir l'étude des paramètres physico-chimiques notamment en augmentant le nombre d'échantillons et de diversifiés les lieux de récolte. Ces données pourront contribuer à l'établissement de normes en matière d'huiles essentielles des trois espèces au Burkina Faso.

References

- [1] Norme ISO 279., 1998. Huiles essentielles — Détermination de la densité relative à 20 °C — Méthode de référence.
- [2] Norme ISO 1242., 1999. Huiles essentielles — Détermination de l'indice d'acide.
- [3] Norme ISO 709., 2001 Huiles essentielles — Détermination de l'indice d'ester, 2001.
- [4] Norme ISO 280., 1998. Huiles essentielles — Détermination de l'indice de réfraction
- [5] Le Hir, A., Chaumeil, J.C., Brossard, D., 2009. Pharmacie galénique : bonnes pratiques de fabrication des médicaments, 10ème édition, Elsevier Masson, 454 pages.
- [6] Morel, J.M., Bruel, P., Labouyrie, V., Priolet, P.L., Liégard, L., 2010. Intérêt des Huiles Essentielles GAE® dans la prise en charge des affections virales des voies respiratoires en officine, *Phytothérapie* 8 (1), 21 – 25.
- [7] Touré, D., 2015. Etude chimique et biochimique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de Côte d'Ivoire, thèse de doctorat, Université Félix Houphouët-Boigny, 116 pages.
- [8] EDBM, 2018. Investir dans la filière huiles essentielles à Madagascar, www.edbm.gov.mg.
- [9] Mwangi, J.W., Addae-Mensah, I., Muriuki, G., Munavi, R., Lwandé, W., Hassanali, A., 1992. Essential oil of lippia species of Kenya. IV: Maize Weevil (*Sitophilus zeamais*) repellancy and larvicidal activity. *Int. J. Pharmacognosy* 30 (1), 9-16. [Doi.org/10.3109/13880209209054622](https://doi.org/10.3109/13880209209054622).
- [10] Abena, A.A., Diatwa, M., Gakosso, G., Gbeassor, M., Hondi-Assah, T., Ouamba, J.M., 2003. Analgesic, antipyretic and anti-inflammatory effects of essential oil of *Lippia multiflora*. *Fitoterapia* 74 (3), 231-236. [Doi: 10.1016/s0367-326x\(03\)00029-7](https://doi.org/10.1016/s0367-326x(03)00029-7).
- [11] Carnat, A., Carnat, A.P., Fraisse, D., Ricoux, L., Lamaison, J.L., 2004. The aromatic and polyphenolic composition of *Roman camomile* tea. *Fitoterapia* 75 (1), 32- 38. [DOI :10.1016/S0367-326X\(03\)00195-3](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(03)00195-3).
- [12] Tia, R.V., Adima, A.A., Niamké, S.L., Gnago, A.J., Thibaud, M., Lozano, P., Menut, C., 2011. Chemical composition and insecticidal activity of essential oil of two aromatic plants from Ivory Coast against *Bemisia tabaci* G. (Memiptera: Aleyrodidae). *Nat. Prod. Comm.* 6 (8), 1183-1188.
- [13] Péliissier, Y., C. Marion, C., Casadebaig, J., Milhau, M., Kone, D., Loukou, G., Nanga, Y., Bessière J.M., 1998. A chemical, toxicological, bacteriological and clinical studies of *Lippia multiflora* Mold. (Verbenaceae) essential oils. *Journal of Essential Oil Research* 6 (6), 623-630. [Doi.org/10.1080/10412905.1994.9699354](https://doi.org/10.1080/10412905.1994.9699354).
- [14] Hema, M.D., Biguezoton, A., Touré, A., Konaté, A., Zoungrana, S., Nèbie C.H.R., 2018. Activité acaricide des extraits exaniques et des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques acclimatées au Burkina Faso sur la tique *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, *Science et Technique*, n°4, spécial hors-série
- [15] Wangrawa, D.W., Badolo, A., Guelbéogo, W.M., Kiendrébeogo, M., Nèbié, R.C.H., Sagnon, N., Sanon, A., 2015. Biological activities of four essential oils against *Anopheles gambiae* in Burkina Faso and their *in vitro* inhibition of acetylcholinesterase. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 9 (2), 793-802. [DOI : 10.4314/ijbcs.v9i2.19](https://doi.org/10.4314/ijbcs.v9i2.19)
- [16] Bayala, B., 2014. Etude des propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires, anti-prolifératives et anti-migratoires des huiles essentielles de quelques plantes médicinales du Burkina Faso sur des lignées cellulaires du cancer de la prostate et du glioblastomes, thèse de doctorat unique en physiologie et génétique moléculaire, Université Blaise Pascal, p.139.
- [17] Kiendrébeogo, M., Coulibaly, A., Nèbié, R.C., Lamien, C.E., Lamien-Méda, A., Nacoulma, O.G., 2011. Anticholinesterase and antioxidant activity of essential oil from six medicinal plants from Burkina Faso. *Braz. J. Pharmacogn.* 21(1), 63-69. [Doi.org/10.1590/S0102-695X2011005000008](https://doi.org/10.1590/S0102-695X2011005000008).
- [18] Coulibaly, A., Traoré, A., Bazié, V.B., Bibuezoton A.S., Ouattara, L.P., Konaté, A., Touré, A., Zoungrana, S., Koné, M., Nèbié H.C.R., 2019. Efficacité acaricide des huiles essentielles de deux plantes aromatiques du Burkina Faso sur les adultes d'une tique de bétail résistante aux acaricides de synthèse. *Science et Technique*, vol 38, spécial hors-série.
- [19] Ouédraogo, I., Sawadogo, A., Nèbié R.C.H., Dakouo, D., 2016. Evaluation de la toxicité des huiles essentielles de *Cymbopogon nardus* (L) et *Ocimum gratissimum* (L) contre *Sitophilus zeamais* Motsch et *Rhyzopertha dominica* F, les principaux insectes nuisibles au maïs en stockage au Burkina Faso. *Int.J. of Biol. Chem. Sci.* 10 (2), 695–705. [DOI: 10.4314/ijbcs.v10i2.20](https://doi.org/10.4314/ijbcs.v10i2.20).
- [20] Kpoviessi B.G.H. K., Kpoviessi, S.D.S., Ladekan, E.Y., Gbaguidi, F., Frédéricich, M., Moudachirou, M., Quetin-Leclercq, J., Accrombessi G.C., 2014. In vitro, antitrypanosomal and antiplasmodial activities of crude extract and essential oil of *Ocimum gratissimum* Linn from Benin and influence on vegetative stage. *Journal of ethnopharmacology* 155 (3), 1417-23. [Doi: 10.1016/j.jep.2014.07.014](https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.07.014)
- [21] Adjou E.S., Kouton, S., Dahouenon-Ahoussi, E., Soumanou M.M., 2013. Sohounhloue, D.C.K. Effet of fresh leaves of *Ocimum gratissimum* L. during storage of peanuts in Benin, *Mycotoxin Res.* 29 (1), 28-39. [Doi: 10.1007/s12550-012-0150-y](https://doi.org/10.1007/s12550-012-0150-y).
- [22] Djibo, A.K., Samaté A.D., Nacro, M., 2004. Composition chimique de l'huile essentielle de *Ocimum americanum* Linn., syn. *O. canum Sims* du Burkina Faso, *Compte rendu Chimie*, vol. 7, (11–12), 1033–1037. [Doi.org/10.1016/j.crci.2003.12.029](https://doi.org/10.1016/j.crci.2003.12.029).
- [23] Yayi-ladekan, E., Kpoviessi D.S.S., Kpadonou-Kpoviessi, B.G.H., Gbenou, J., Jolival, C., Moudachirou M., Accrombessi, G.C., Quetin-Leclercq, J., 2011. Variation chimique de la composition chimique et influence sur les propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle de *Ocimum canum sims* cultivé au Bénin. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 4 (5), 1462-1475. [DOI : 10.4314/ijbcs.v5i4.13](https://doi.org/10.4314/ijbcs.v5i4.13)
- [24] Bassolé, I.H.N., Ouattara, A.S., Nèbié, R., Ouattara, C.A.T., Kaboré, Z.I., Traoré, S.A., 2003. Chemical composition and antibacterial activities of essential oil of *Lippia chevalieri* and *Lippia multiflora*, from Burkina Faso, *Phytochemistry* 62 (2), 209-212. [Doi: 10.1016/s0031-9422\(02\)00477-6](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(02)00477-6).
- [25] Nasma, M., Slimani, N., Nadji, S.B., Bouzeguag, C., Kadri, M., Khelil, A., 2019. Extraction et caractérisation physico-chimique et biologique des huiles essentielles à partir de *Cymbopogon schoenanthus* dans la région de Ghardaia. *Master Académique en Sciences Biologiques Revue des Bioressources* 9 (2), 21-34
- [26] Gbenga, A., Orungbemi, O.O., 2016. Comparative studies of physico-chemical composition and antibacterial activities of essential oil extracted from medicinal plants of scent leaves (*Ocimum basilicum* Lamiaceae and *Ocimum gratissimum* Lamiaceae). *Research Journal of Food Science and Nutrition* 1 (1), 28-34. [Doi.org/10.31248/RJFSN2016.011](https://doi.org/10.31248/RJFSN2016.011)

- [27] Kanko, C., Sawaliho, B.E., Koné, S., Koukoua, G., N'guessan, Y.T., 2004. Etude des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de *Lippia multiflora*, de *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon giganteus*. C.R Chimie, 7 (10-11), 1039-1042. Doi: [10.1016/j.crci.2003.12.030](https://doi.org/10.1016/j.crci.2003.12.030).
- [28] Wouatsa, N.A.V., Misra, L., Kumar, R.V., 2014. Antibacterial activities of essential of edible spices, *Ocimum canum* and *Xylopiya aethiopia*. Journal of Food Science 79 (5), 972-977. Doi: [10.1111/1750-3841.12457](https://doi.org/10.1111/1750-3841.12457)
- [29] Huong, N.C., Ngan T.T.K., Anh T.T., Le X.T., Lam, T.D., Cang, M.H., Huong, T., Pham, N.D.Y., 2020. Physical and chemical profile of essential oil of Vietnamese *Ocimum gratissimum* L. Materials Science and Engineering, 736 (2020). Doi: [10.1088/1757-899x/736/6/062010](https://doi.org/10.1088/1757-899x/736/6/062010).
- [30] Boukathem, M.N., Hamaidi, M.S., Saidi, F., 2010. Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle de geranium rosette (*Pelargonium graveolens* L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). Nature et Technologie 2 (2), 37-45.
- [31] Kobenan, K.C., Kouakou, B.J., Bini, K.K.N., Kouakou, M., Dick, A.E., Ochoy, O.G., 2019. Effets des huiles essentielles de *O. gratissimum* L. et de *Cymbopogon citratus* Stapf sur les paramètres de croissance et de production du cotonnier en Côte d'Ivoire. European Journal of Scientific Research 154 (1), 21-35.
- [32] Kassi, M.F., Kouamé, K.G., Kouamé, K., Bolou, B.A., Koné, B., 2020. Composition chimique des huiles essentielles des feuilles fraîches de *Ocimum gratissimum* et évaluation de sa fongitoxicité sur 3 isolats de *Fusarium oxysporum lycopersici*, parasite tellurique en culture de tomate. Afrique Science 16 (1), 226-237.
- [33] Melo, R.S., Azevedo, A.A.M., Pereira, A.M.G., Rocha, R.R., Cavalcante, R.M.B., Matos, N.N.C., Lopes, P.H.R., Gomes, G.A., Rodrigues, T.H.S., Dos Santos, H.S., Ponte, I.L., Costa, P.A., Brito, G.S., Júnior, F.E.A.C., Carneiro, V.A., 2019. Chemical composition and antimicrobial effectiveness of *Ocimum gratissimum* L. essential oil against multidrug-resistant isolates of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Molecules, 24 (21). Doi: [10.3390/molecules24213864](https://doi.org/10.3390/molecules24213864).
- [34] Nascimento, J.C., Barbosa, L.C., Paula, V.F., David, J.M., Fontana, R., Silva, L.A.M., França, R.M., 2011. Chemical composition and antimicrobial activity of *Ocimum canum* Sims. and *Ocimum seloi* Benth. Annals of Brazilian Academy of Sciences 83 (3), 789-799. DOI: [10.4314/ijbcs.v5i4.13](https://doi.org/10.4314/ijbcs.v5i4.13).
- [35] Ntonga, P.A., Belong, P., Tchoumboungang, F., Fils, E.M.B. Fankem, H., 2012. Composition chimique et effet insecticide des huiles essentielles des feuilles fraîches de *Ocimum canum* Sims et de *Ocimum basilicum* L. sur les adultes de *Anopheles funestus* ss, vecteur du paludisme au Cameroun. Journal of applied Biosciences 59, 4340-4348.
- [36] Kumar, A., Singh, P.P., Gupta, V., Prakash, B., 2020. Assessing antifungal and aflatoxin B1 inhibitory efficacy of nanoencapsulated antifungal formulation based on combination of *Ocimum* spp. Essential oils. International Journal of Food Microbiology, 330. Doi: [10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108766](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108766).
- [37] Konan, J.L.K., Turquin, L., Attah, H., Yao-Kouamé, A., Allou K., Ake, S., 2010. *Lippia multiflora* (verbeaceae en Côte d'Ivoire) : Point des premiers résultats de recherche et enjeu culturel, Agronomie Africaine 22 (2), 121-130. DOI : [10.4314/aga.v22i2.68360](https://doi.org/10.4314/aga.v22i2.68360).
- [38] Samba, N., Aitfella-Lahlou, R., Nelo, M., Silva, L., Coca, R., Rocha, P., Rodilla, J.L.M., 2021. Chemical composition and antibacterial activities of *Lippia multiflora* Moldenke essential oil from different regions of Angola. Molecules 26 (155). doi: [10.3390/molecules26010155](https://doi.org/10.3390/molecules26010155).
- [39] Ade-Ademilua, E.O., Obi, H.O., Craker, L.E., 2013. Growth and essential oil yield of African basil, *Ocimum gratissimum*, under light and water stress. Journal of Medicinally active plants 1(4), 143-149. DOI : <https://doi.org/10.7275/R59W0CD7>.
- [40] Lermen, C., Morelli, F., Gazim, Z.C., Da Silva, A.P., Goncalves, J.C., Graunke, D.C., Alberton, O., 2015. Essential oil content and Chemical composition of *Cymbopogon Citratus* inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi under different levels of lead. Industrial crops and products 76, 734-738. Doi: [10.21475/ajcs.19.13.02.p1344](https://doi.org/10.21475/ajcs.19.13.02.p1344).
- [41] Linde, G.A., Gazim, Z.C., Cardoso, B.K., Jorge, L.F., Tesevic, V., Glamoclija, J., Sokovic, M., Cauloto, N.B., 2016. Antifungal and antibacterial activities of *Petroselinum crispum* essential oil, Genetic and Molecular Research 15 (3). Doi : [10.4238/gmr.15038538](https://doi.org/10.4238/gmr.15038538).

Phytonutriments et potentiel antibactérien de l'extrait hydro-éthanolique des cosses de fruits de *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth

Bothon Fifa T. Diane^{1,2*}, Atindehou Mènonvè³, Koudoro Yaya A², Dedjiho C. Camille² Agbangnan Dossa C. Pascal², Avlessi Félicien²

¹Laboratoire Kaba de Recherche en Chimie et Applications; Institut National Supérieur de Technologie Industrielle, Université Nationale des Sciences, Technologies Ingénierie et Mathématiques Bénin

²Laboratoire d'Etude et de Recherche en Chimie appliquée, Ecole Polytechnique d'Abomey Calavi, Université d'Abomey-Calavi, 01 BP 2009 Cotonou, Bénin

³Unité de Biochimie et de Biologie Moléculaire, Laboratoire de Biochimie et Substances Naturelles Bioactives. Faculté des Sciences et Techniques, Université D'Abomey-Calavi, Bénin

Résumé

Plus connues pour leur rôle dans la fabrication des écomatériaux en construction, les cosses des fruits de *Parkia biglobosa* sont aussi utilisées en médecine traditionnelle. La présente étude s'intéresse aux constituants chimiques et aux activités antibactériennes de l'extrait semi-éthanolique des cosses de *P. biglobosa*. Elle a consisté à: d'une part, déterminer la teneur en minéraux par la spectroscopie d'absorption atomique de flamme, révéler les classes de métabolites secondaires qu'il contient par des tests de coloration et/ou de précipitation d'autre part à déterminer pour 3 souches Gram (-) et 2 Gram (+) les CMI par microdilution et les CMB sur milieu solide gélosé. Les résultats montrent que les cosses contiennent 1,23% de Potassium, 0,65% d'Azote 0,23% de Calcium et 0,12% de Magnésium. Tannins catéchiques, anthocyanes, leucoanthocyanes, anthraquinones, saponines, composés réducteurs, stérols et terpènes y ont été révélés. Avec un rapport CMB/CMI < 4, l'extrait hydro-éthanolique des cosses de *P. biglobosa* a une activité bactéricide sur *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* et *Staphylococcus aureus*. Cette activité antimicrobienne sur des bactéries multirésistantes aux antibiotiques peut contribuer à la lutte contre les maladies infectieuses en Afrique. L'évaluation d'autres propriétés et de la toxicité aiguë et subaiguë de l'extrait s'avère nécessaire.

Mots clés: *Parkia biglobosa*, cosses, constituants, bactéricide.

Phytonutrients and antibacterial potential of hydro-ethanolic extract of *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth fruit husk

Abstract

Known for their role in the manufacture of eco-materials in buildings, *Parkia biglobosa* fruit husks are also used in folk medicine. The present study focuses on chemical constituents and antibacterial activities of the semi-ethanolic extract of *P. biglobosa* husk. It consisted in: on the one hand determining the mineral content by flame atomic absorption spectroscopy, revealing classes of secondary metabolites it contains by staining and/or precipitation tests, and on the other hand, determining for 3 strains Gram (-) and 2 Gram (+) the MICs by microdilution and the MBCs on solid agar plates. Results showed that husks contain 1.23% Potassium, 0.65% Nitrogen, 0.23% Calcium and 0.12% Magnesium. Catechic tannins, anthocyanins, leuco-anthocyanins, anthraquinones, saponins, reducing compounds, sterols and terpenes were found present. With a ratio MBC/MIC < 4, hydroethanolic extract of *P. biglobosa* fruit husk was deemed bactericidal on *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* and *Staphylococcus aureus*. This antimicrobial activity on multi-antibiotic-resistant bacteria can contribute to the fight against infectious diseases in Africa. Evaluation of other properties and acute and subacute toxicity of the extract is necessary.

Keywords: *Parkia biglobosa*, husks, constituents, bactericidal.

1. Introduction

Encore appelé "néré", *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth ou *Parkia clappertoniana* Keay est un arbre allant jusqu'à 30 m de haut, d'inflorescence globuleuse rouge; donc les fruits sont à gousses variables et plats contenant des grains. Il est rencontré dans les forêts de galerie en Afrique tropicale, surtout centrale et de l'Est^[1]. Les différentes parties (feuilles, écorces, racines) de *P. biglobosa* sont connues pour leurs diverses propriétés biologiques: anti-inflammatoire, antibactérien, antidiabétique, anti diarrhéique, antihypertensifs, anti ucérique^{[2],[3]}. Les graines sont utilisées par fermentation pour la fabrication de condiments tels que *afintin* et *sonru* au Bénin^[4]; *Iru* et *dawadawa* au Nigeria^[5]; *Soumbala* au Burkina Faso^[6]. La pulpe des fruits est connue pour sa richesse en nutriments et en minéraux^{[7],[8]}. En ce qui concerne les cosses des fruits, elles sont connues comme un biopesticide^{[9],[10]}. En décoction, elles sont utilisées traditionnellement en Afrique de l'Ouest dans les constructions en latérite ; elles jouent le rôle

d'agent de liaison et confèrent à la construction une durabilité et une résistance et imperméabilité^{[11],[12],[13]}. Bien que les cosses entrent dans la préparation de certaines recettes en médecine traditionnelle, il excite très peu de travaux scientifiques sur leur composition et leurs potentiels thérapeutiques^{[14],[15],[16]}. Afin de mettre en valeur les vertus des cosses des fruits de cette plante, très connue et très importante en Afrique de l'Ouest, le présent travail exploratoire a été mené.

2. Matériel et Méthodes

a. Matériel végétal

Les fruits de *Parkia biglobosa* ont été collectés en avril 2018 à Parakou. Les cosses ont été récupérées et séchées à température ambiante en laboratoire et réduites en poudre.

b. Souches bactériennes

Les souches bactériennes utilisées ont été fournies par le Laboratoire de Biochimie et Substances Naturelles Bioactives de l'université d'Abomey-Calavi (Bénin). Il s'agit de deux Gram négatifs : *Escherichia coli* (CIP53126) et *Pseudomonas aeruginosa* (CIP 82118), et deux Gram positifs : *Enterococcus faecalis* (ATCC29212), *Staphylococcus aureus* (ATCC6538).

c. Extraction

Dix grammes (10 g) de poudre de cosses de *Parkia biglobosa* ont été extraits par macération sous agitation dans 100 ml d'éthanol-eau (50/50) pendant 24 heures. Après filtration sur Buchner, le filtrat a été concentré à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif, le rendement calculé, puis stocké à 4°C pour une utilisation ultérieure.

d. Détermination de la teneur en minéraux

La teneur en minéraux a été déterminée sur les cendres des cosses des fruits de *P. biglobosa*. Les cendres ont été digérées pendant 30 min dans un mélange d'acide nitrique 1M et d'acide chlorhydrique 3N. Les filtrats obtenus ont été utilisés pour déterminer la teneur en minéraux, conformément à la méthode décrite par les normes NF EN 14082 et ISO 15587-2 utilisant la spectroscopie d'absorption atomique (VARIANT avec spectres A110 logiciel).

e. Détermination des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires (Tannins catéchiques, anthocyanes, leucoanthocyanes, anthraquinones, saponines, composés réducteurs, stérols et terpènes) ont été recherchés grâce à des tests colorimétriques ou de précipitation suivant les méthodes utilisées^[17].

f. Tests microbiologiques

Le potentiel antimicrobien de l'extrait hydro éthanolique des cosses a été évalué à travers la détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et la Concentration Minimale Bactéricide (CMB). Les tests ont été faits en microplaques selon la méthode utilisée par^[18]. A partir de 20 mg d'extrait de plantes, la solution mère est préparée à 20 mg/ml en ajoutant 100 µl d'acétone et 900 µl d'eau stérile. Les dilutions se font dans le MHB pour préparer une gamme de concentration à tester est de 10; 5; 2,5; 1,25; 0,625; 0,312...mg/ml. La CMI est déterminée à partir d'une pré-culture en phase exponentielle de croissance, une suspension bactérienne à 0,001 à DO₆₂₀ nm est préparée. Dans chaque puits, on met 100 µl de la suspension bactérienne et 100 µl de la solution d'extraits. Le témoin de culture, le témoin contrôle du solvant (10% d'acétone), le témoin négatif avec des antibiotiques usuels sont réalisés en parallèle. La concentration minimale inhibitrice est déterminée par l'utilisation de l'iodonitrotétrazolium. La CMB a été déterminée sur milieu gélosé sont placées à 37 ° C pendant 24 heures, à partir des puits qui n'ont montré aucune croissance lors de la détermination de la CMI.

3. Résultats et discussion

a. Le rendement

Après plusieurs extractions le rendement obtenu est de 33, 11 ± 1,33g.

b. **Profil en phytonutriments des cosses des fruits de *P. biglobosa***

Les minéraux sont des nutriments essentiels dont le corps humain a besoin en petites quantités pour son bon fonctionnement. La teneur en nutriments des cosses des fruits de *P. biglobosa* sont présentés dans le tableau 1.

Tableau 1: **Teneur en minéraux des cosses de *P. biglobosa***

Minéraux	Pourcentage
Azote	0,65
Calcium	0,23
Potassium	1,23
Sodium	0,05
Fer	0,06
Manganèse	0,003
Magnésium	0,12

Les minéraux les plus présents sont: le potassium (1,23%), l'azote (0,65%), le calcium (0,23%) et le magnésium (0,12%).

Une alimentation riche en potassium réduit le risque d'hypertension^[19]. Selon l'Agence Nationale Sécurité Sanitaire Alimentaire Travail, le calcium a fonction bien connue, celle d'édification et de renouvellement du squelette. Le magnésium est un régulateur du métabolisme glucidique et lipidique des tissus musculaires, cardiaques et nerveux. Dans l'organisme, le fer joue un rôle majeur constituant dans la fabrication et le fonctionnement de l'hémoglobine, mais il est faiblement présent dans les cosses des fruits de *P. biglobosa*

Tableau 2: **Profil en métabolites secondaires des cosses de fruits**

Métabolites secondaires	Résultat	
Alcaloïdes	-	
Flavonoïdes	-	
Tannins	Catéchique	+
	gallique	-
Anthocyanes	+	
Leucoanthocyanes	+	
Anthraquinones	+	
Mucilages	-	
Saponosides	+	
Coumarines	-	
Quinones	-	
Composés réducteurs	+	
Dérivés cyanogéniques	-	
Stérols et terpènes	+	

+ Révélé - Non révélé

Les métabolites secondaires connus dans les cosses de fruits sont présentés dans le tableau 2. Contrairement à la présente étude, d'autres ont montré la présence de flavonoïdes et l'absence de stérols et de terpènes^{[15], [20]}. Cette différence pourrait être due à la diversité des facteurs écologiques et édaphiques des sites de récolte.

c. **Potentiel antibactérien des extraits des cosses des fruits de *P. biglobosa***

La résistance aux antibiotiques est due de leur utilisation prolongée ; elle est désormais une préoccupation mondiale et constitue une crise sanitaire mondiale^[21]. De nombreux agents pathogènes multirésistants existent et sont responsables de plusieurs maladies. *Pseudomonas aeruginosa* est responsable d'infections diverses (pulmonaires, urinaires, cutanées, etc.). Cette bactérie est devenue plus résistante aux antibiotiques. L'Organisation mondiale de la santé l'a classé comme un pathogène prioritaire, contre lequel il est urgent de découvrir de nouveaux traitements^[22]. L'infection urinaire est

une pathologie fréquemment rencontrée dans les pratiques hospitalières ; *Escherichia coli* est l'espèce bactérienne principale impliquée dans cette infection^{[23][24]}. *Enterococcus faecalis* fait partie du microbiote des voies intestinales et biliaires. *Staphylococcus aureus* est l'un des principaux agents responsables de la pneumonie et d'autres infections des voies respiratoires^[25].

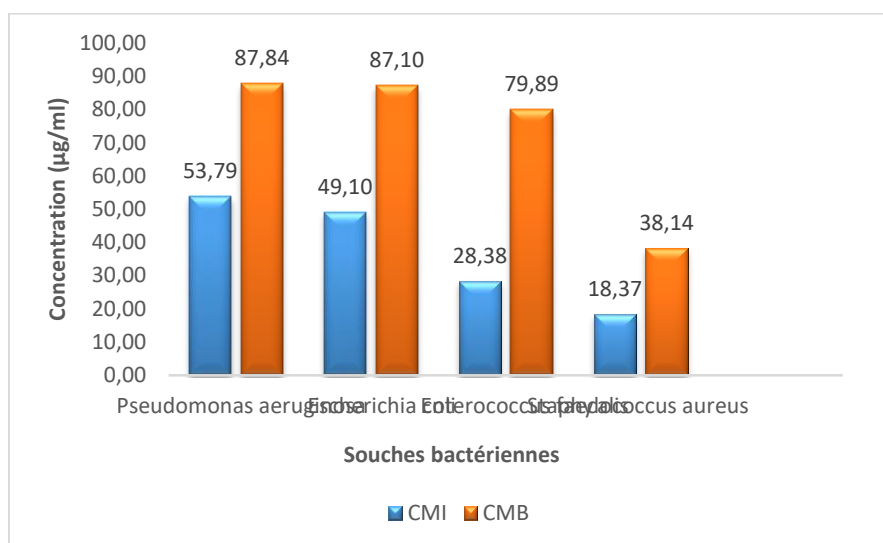


Figure 1: CMI et CMB de l'extrait hydroéthanolique des cosses des fruits de *P. biglobosa*

Avec la détermination de la CMI et la CMB (Figure 1), le pouvoir antibiotique de l'extrait hydroéthanolique a été déterminé grâce au calcul du ratio CMB/CMI. Ce rapport est de 1,77 sur *Escherichia coli* ; 2,82 sur *Enterococcus faecalis* ; 1,63 sur *Pseudomonas aeruginosa* et 2,07 sur *Staphylococcus aureus*. Si CMB/CMI < 4, l'effet est défini comme bactéricide^[26], on en déduit donc que l'extrait hydroéthanolique des cosses de fruit de *P. biglobosa* a une action bactéricide sur les 4 souches testées.

Bien que pauvre en métabolites secondaires, la présence de saponosides^[27] et de tannins^[28] pourraient justifier l'activité bactéricide de l'extrait étudié.

4. Conclusion

Au vu de son potentiel antibactérien, l'extrait hydroéthanolique des cosses des fruits *Parkia biglobosa* pourrait être une nouvelle source de développement de médicaments traditionnels améliorés pour la population africaine. Avant d'atteindre cet objectif, une étude plus approfondie de la composition chimique et de la toxicité des extraits de *Parkia biglobosa* s'avère nécessaire.

5. Références

- [1] A. Akoègninou, W. J. Van der Burg, L. J. G. Van der Maesen, Flore analytique du Bénin 2006. Many line drawings. XXII, 1034 p. grovo. Hardcover
- [2] V. Fifamè Grâce Nadège *et al.*, "A review on medicinal plants of *Parkia Biglobosa* (Mimosaceae -Fabaceae) and *Pterocarpus Erinaceus* (Leguminosae – Papilionoidea)," *J. Med. Plants Stud. JMPS*, vol. 132, no. 46, pp. 132–137, 2016.
- [3] "W. G. Balogu, I. A. Abeyayo, Usman Y. Azman " A review of the phytochemistry and medicinal activities of the popular african food additive: *Parkia biglobosa* seed" *Oriental pharmacy and Experimental Medicine* 2018.
- [4] P. Azokpota, D. J. Hounhouigan, and M. C. Nago, "Microbiological and chemical changes during the fermentation of African locust bean (*Parkia biglobosa*) to produce afitin, iru and sonru, three traditional condiments produced in Benin," *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 107, no. 3, pp. 304–309, 2006.
- [5] M. E. Ojewumi, and Omoleye, James and Ajayi, A. A., The Study of the Effect of Moisture Content on the Biochemical Deterioration of Stored Fermented *Parkia Biglobosa* Seeds. *Open Journal of Engineering Research and Technology*, 1 (1). pp. 14-22, 2016.
- [6] C. S. Compaoré, F. W. Tapsoba, C. Parkouda, D. Tamboura, E. M.A. Traoré, B. Diawara, A. Savadogo, L. Jespersen and H. Sawadogo-Lingan, Development of starter cultures carrier for the production of high quality soumbala, a food condiment based on *Parkia biglobosa* seeds. *African journal of biotechnology* vol. 19(11), pp.820-828, 2020

- [7] C. Termote, N. O. Odongo, B. S. Dreyer, B. Guissou, C. Parkouda, and B. Vinceti, "Nutrient composition of *Parkia biglobosa* pulp, raw and fermented seeds: a systematic review," *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 62, no. 1, pp. 119–144, 2022.
- [8] C.B. Olalude, Adegboyega AM, Bamigboye AY, Abiona DL, Anifowose OA, et al. Proximate analysis and mineral content determination of traditionally processed locust bean (*Parkia biglobosa*) fruit pulp for possible industrial application, *Edelweiss Chem Sci J* 4: 10-13, 2021.
- [9] G. Kambou, N. Somé, and S. Ouedraogo, "Effets des cosses de néré, *Parkia biglobosa* (Jacq.) R. Br. Ex. G. Ddon sur l' émergence du *Striga hermonthica* (Del.) Benth, les propriétés agrochimiques du sol et le rendement du maïs," *Bull. la Rech. Agron.*, vol. 29, no. 226, pp. 16–30, 2000.
- [10] O. Fayinminnu, O. Adeniyi, O. Alabi, and D. Omobusuyi, "Potentials of Aqueous Extract of Pod Husk *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth as a Biopesticide in Okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) Production," *J. Agric. Ecol. Res. Int.*, vol. 12, no. 1, pp. 1–12, 2017.
- [11] A. Y. Adama, Y. A. Jimoh, and S. S. Kolo, "Effect of Locust Bean Pod Ash on Compaction Characteristics of Weak Sub Grade Soils," *Int. J. Eng. Sci. Invent.*, vol. 2, no. 1, pp. 27–34, 2013.
- [12] S. Banakinao, S. Tiem, K. Lolo, Y. Koutsawa, and K. Sa Bedja, Dataset of the use of tannin of néré (*Parkia biglobosa*) as a solution for the sustainability of the soil constructions in West Africa. *Data Brief*. 2016 Sep; 8: 474–483.
- [13] S. A. Abagale, S. K. Twumasi, and J. Awudza, "Chemical Analyses of *Parkia biglobosa* Fruit Husk Extract and Lateritic Soil Used in Ethnobotanical Preparation of Mud Wall Plaster in Some West African Countries," vol. 6, no. 2, pp. 14–19, 2020.
- [14] Y. Jesse, H. Sule, and C. Philip, Doruwa (*Parkia biglobosa*) fruit husk and hyptis (*Hyptis spicigera*) leaves for controlling root-knot nematodes (*Meloidogyne incognita*) in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill C.V.) *J. Trop. Agric.*, vol. 44, pp. 83–85, 2006.
- [15] S. K. Twumasi and J. A. M. Awudza, Chemical analyses of aqueous extract of *Parkia biglobosa* fruit husk collected from Northern Ghana, *Sci. Res. Essays*, vol. 8, no. 14, pp. 589–595, 2013.
- [16] A. Ibrahim, M. Adamu, A. Bello, D. Dahiru, Effects of Crude Saponins Extract of *Parkia biglobosa* Fruit-Husk on Some Liver and Kidney Indices on Gentamicin-Induced Nephrotoxicity in Male Wistar Rats," vol. 4, no. 1, pp. 14–18, 2021.
- [17] F. T. D. Bothon, J. Adovelande, C. P. A. Dossa, F. Avlessi, D. V. Wotto, and D. C. K. Sohounhlooue, "Phytochemical Study, Vitamins Content and Free Radical Scavenging Activity of *Bixa Orellana* L. Leaves From Benin," *Indo Am. J. Pharm. Sci.*, vol. 5, no. 9, pp. 9106–9113, 2018.
- [18] M. Atindehou *et al.*, "Isolation and Identification of Two Antibacterial Agents from *Chromolaena odorata* L. Active against Four Diarrheal Strains," *Adv. Microbiol.*, vol. 03, no. 01, pp. 115–121, 2013.
- [19] M. C. Houston, K. J. Harper Potassium, magnesium, and Calcium: Their Role in Both the cause and Treatment of hypertension" *J Clin Hypertens*, 10(7 Suppl 2):3-11, 2008
- [20] B.S.Salit, E. U. Onche, I. J. Mbonu, P. N. Olotu, L. Lajide *Parka Biglobosa* Plants Parts: Phytochemical, Antimicrobial, Toxicity And Antioxidant Characteristics, *Journal of Natural Sciences research* Vol.4, N°2, 2014 .
- [21] S. Ali, M. Alam, G. M. Hasan, Md I. Hassan. Potential therapeutic targets of *Klebsiella pneumoniae*: a multi-omics review perspective. *Briefings in Functional Genomics*, Volume 21, Issue 2, Pages 63–77, 2022.
- [22] M. De Jode and L. Debarbieux, "Pseudomonas aeruginosa utilise ses bactériophages filamenteux pour manipuler la réponse immunitaire," *Med. Sci. (Paris)*, vol. 35, no. 11, pp. 828–830, 2019.
- [23] J. el bakkouri, H. Belabbes, K. Zerouali, A. Belaiche, D. Messaouidi Résistance aux Antibiotiques d'Escherichia coli Uropathogène Communautaire et Consommation d'Antibiotiques à Casablanca (Maroc), *European Journal of Scientific Research*, Vol. 36, N°1, 2009.
- [24] Y. B. Lahlou, E. Benaissa, A. Maleb, M. Chadli, M. Elouennass, Resistance aux antibiotiques des souches d'Escherichia coli isolées des urines et revue de la littérature; *Journal marocain des sciences médicales*, tome 22, N°3, 2020
- [25] S. Y. C. Tong, J. S. Davis, E. Eichenberger, T. L. Holland, and V. G. Fowler, "Staphylococcus aureus infections: Epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management," *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 28, no. 3, pp. 603–661, 2015.
- [26] W. Nakyai, W. Pabuprapap, W. Sroimee, V. Ajavakom, B. E. Yingyongnarongkul, and A. Suksamrarn, "Anti-acne vulgaris potential of the ethanolic extract of *Mesua ferrea* L. Flowers," *Cosmetics*, vol. 8, no. 4, pp. 1–12, 2021.
- [27] G. Khanna Venkatesan, A. Kuppasamy, S. Devarajan, and A. Kumar Krishna Kumar, "Review on Medicinal Potential of Alkaloids and Saponins," vol. 1, pp. 1–20, 2019.
- [28] B. Kaczmarek, "Tannic acid with antiviral and antibacterial activity as a promising component of biomaterials-A minireview," *Materials (Basel)*, vol. 13, no. 14, 2020.

Synthèse des 3-acyl-4-hydroxycoumarines

Résumé :

Nous avons synthétisé une série de 3-acyl-4-hydroxycoumarines par O-acylation de la 4-hydroxycoumarine suivie d'un réarrangement en C-acylation : 3-(4-méthylbenzoyl)-4-hydroxycoumarine (a), 3-(4-tertiobutylbenzoyl)-4-hydroxycoumarine (b), 3-(4-chlorobenzoyl)-4-hydroxycoumarine (c) et 3-(4-nitrobenzoyl)-4-hydroxycoumarine (d). Les composés ont été caractérisés par des méthodes spectrométriques : la spectroscopie infrarouge (IR), la résonance magnétique nucléaire (RMN) du proton (^1H) et du carbone 13 (^{13}C). L'apparition de nouvelles bandes de vibrations en IR, attribuables aux nouvelles liaisons formées, atteste que les réactions attendues se sont réalisées. La bonne corrélation entre les résultats de la RMN du proton (^1H) et ceux du carbone 13 (^{13}C) confirme cette conclusion.

Mots clés : 3-acyl-4-hydroxycoumarines, IR, RMN du proton (^1H), RMN du carbone 13 (^{13}C).

Introduction

Les coumarines constituent une grande classe d'hétérocycle et présentent toutes une structure composée d'un cycle benzène et d'un noyau lactone (benzo- α -pyrone) formant alors un noyau coumarine simple. Ce noyau est la structure centrale de plusieurs produits naturels ou synthétiques rencontrés dans un certain nombre d'agents médicaux tels que: les antibactériens [1], les anticancéreux [2], les anticoagulants [3], les antioxydants [4], les anti-VIH [5], les antimicrobiens, les antifongiques [6] etc. C'est la présence du noyau de la coumarine qui confère à ces composés un intérêt pharmacologique et thérapeutique [3]. À ce noyau, peuvent s'ajouter différents groupements chimiques à l'origine des différentes coumarines telles que des acylations, des hydroxylations, etc. [7]. La possibilité de faire des substitutions sur le noyau de la coumarine peut permettre de modifier ses propriétés [8]. Dans le présent travail nous nous proposons de synthétiser de nouvelles molécules de coumarines en faisant varier les substituants sur le noyau de base et d'accroître ainsi cette famille de composés. Plusieurs stratégies de synthèse ont été développées dont les acylations qui constituent une des thématiques de recherche de notre laboratoire [9-14]. Notre étude porte sur la synthèse et l'analyse structurale de 3-acyl-4-hydroxycoumarines, qui peuvent être obtenus par acylation de la 4-hydroxycoumarine. Les composés ont été synthétisés en utilisant la méthode de J. Schneckenger, améliorée par A. Saba, [15-16] suivie de celle de Fries [6,17], avec des rendements satisfaisants, à partir de la 4-hydroxycoumarine et du chlorure d'acyle. Les composés obtenus ont été caractérisés par Infra Rouge (IR) et par la Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) du proton (^1H) et du carbone 13 (^{13}C). Nos résultats pourront constituer une contribution à l'agrandissement de la famille de ces molécules biologiquement actives.

2. Partie expérimentale

2.1. Synthèse

Les 3-acyl-4-hydroxycoumarines ont été synthétisées à partir de la 4-hydroxycoumarine en deux étapes.

• Première étape: O-acylation de la 4- hydroxycoumarine

Schéma réactionnel :

La 4-hydroxycoumarine réagit avec des chlorures de benzoyle para substitués (R : para-méthyl (p-CH₃), para-tertiobutyl (p-CH₃)₃C), para-chloro (p-Cl) et para-nitro (p-NO₂)) dans du tétrahydrofurane (THF) en présence de triéthylamine pour former les composés O-acylés comme indiqué ci-dessous.

Mode opératoire :

Ajouter dans un ballon à fond rond contenant 30 ml de THF, 6.17 mmol de la solution de chlorure de benzoyle, puis 3.2 ml (3.6 équivalents molaires) de TEA et 6.17 mmol (1 équivalent molaire) de la 4-hydroxycoumarine par petite portion pendant 30 minutes, sous agitation. Le mélange réactionnel est porté au reflux du solvant pendant 4 h. La solution obtenue est versée dans une ampoule à décanter contenant 40 ml de chloroforme puis acidifiée avec de l'acide chlorhydrique dilué à 10%. La phase organique est extraite puis lavée avec de l'eau distillée jusqu'à un pH neutre ; elle est ensuite séchée avec du MgSO₄. Après filtration, le solvant est éliminé sous vide. Le produit obtenu, benzoate de coumarin-4-yl (i) est lavé à l'hexane et recristallisé dans un mélange de solvants chloroforme – hexane (1/3, V/V).

La deuxième étape : réarrangement du produit O-acylé en C-acylé

Schéma réactionnel :

Les composés O-acylés obtenus après la première étape, subissent un réarrangement dans le DMF en présence d'un acide de Lewis (AlCl₃) pour donner après une hydrolyse, les composés C-acylés. (**Figure 2**).

Mode opératoire :

Ajouter dans un ballon à fond rond contenant 30 ml de DMF, 2.24 mmol du carboxylate de coumarin-3-yl synthétisé dans la première étape ; sous faible agitation, ajouter 0.45 g (1.5 équivalents molaires) du chlorure d'aluminium. Le mélange réactionnel est porté à reflux pendant 3 h. La solution obtenue est versée dans une ampoule à décanter contenant 40 ml de chloroforme puis lavée à l'eau distillée trois fois. La phase organique est extraite et séchée avec du MgSO₄. Après filtration, le solvant est éliminé sous vide. Le produit brut obtenu est lavé avec de l'hexane et recristallisé dans un mélange de solvants chloroforme-hexane (1/3, V/V).

2.2. Matériaux et mesures

Les points de fusion ont été déterminés dans des tubes capillaires sur un Appareil Stuart SMP 11. Les spectres IR ont été enregistrés sur un spectrophomètre Bruker IFS 66/S (FT-IR) (les nombres d'onde sont en cm⁻¹). Les spectres RMN ¹H et ¹³C (+ DEPT 135) ont été enregistrés sur un spectromètre BRUKER AMX à 400 MHz, (déplacements chimiques δ en ppm, couplage J en Hz).

3. Résultats et discussion

3.1. Résultats

Les composés ont été préparés, avec de bon rendement compris entre 72% et 83%, par une réaction de O-acylation de la 4-hydroxycoumarine avec le chlorure de benzoyle correspondant (**Figure 1**), suivi d'un réarrangement pour aboutir aux produits C-acylés.

3.1.1. 3-(4-méthylbenzoyl)-4-hydroxycoumarine (a)

Solide jaune, rendement : 83%, **IR** (cm⁻¹) : 3373 (O- H alcool) 1154 ; (C-O alcool) ; 1681 (C=O lactone); 1115 (C-O lactone) ; 1652 (C=O cétone) ; 1601 (C=C aromatique) 3035 (C-H aromatique) ; 2901 (C-H aliphatique). **¹³C-NMR (400 MHz, CDCl₃)** : 27.51 (C-18) 99.59 (C-3) ; 110.6 (C-10) ; 114.30 (C-6) ; 116.72 (C-8) ; 125.28 (C-5) ; 121.02 (C-7) ; 126.51 (C- 14 et C-16) ; 128.63 (C-13 et C-17) ; 137.24 (C-12) ; 145.15 (C-15) ; 153.69 (C-9) ; 158.93 (C-2) ; 169.96 (C-4) ; 189.16 (C-11). **DEPT 135°** : 27.51 (C-18) ; 114.30 (C-6) ; 116.72 (C-8) ; 125.28 (C-5) ; 121.02 (C- 7) ; 126.51 (C-14 et C-16) ; 128.63 (C-13 et C-17). **¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)** : 7.65 (d, 1H, J = 6.4 Hz, H-5);7.46(m,2H,H-6 etH-8);7.58(t,1H,J=6.4 Hz, H-7) ; 7.79 (d, 2H, J = 9.6 Hz H-13 et H-17) ; 7.71 (d,2H,J=9.6Hz,H-14etH-16);2.36(s,1H,H-18); 14.02 (s, 1H, H). **m.p.** 191-194°C.

3.1.2. 3-(4-tertiobutylbenzoyl)-4- hydroxycoumarine (b)

Solide jaune, rendement : 74%, **IR** (cm⁻¹) : 3372 (O- H alcool) 1154 ; (C-O alcool); 1683 (C=O lactone); 1116 (C-O lactone); 1650 (C=O cétone); 1601 (C=C aromatique) 3035 (C-H aromatique); 2901 (C-H aliphatique). **¹³C-NMR (400 MHz, CDCl₃)** : 30.25 (CH₃); 39.68 (C-18) 99.59 (C-3) ; 109.99 (C-10) ; 114.36 (C-6); 116.50 (C-8) ; 125.26 (C-5) ; 125.25 (C- 7) ; 128.63 (C-14 et C-16) ; 131.75 (C-13 et C-17) ; 134.49 (C-12) ; 155.56 (C-15); 150.94 (C-9) ; 159.82 (C-2) ; 173.87 (C-4); 191.28 (C-11). **DEPT 135°** : 30.25 (CH₃) ; 114.36 (C-6) ; 116.50 (C-8); 125.26 (C- 5); 125.25 (C-7); 128.63 (C-14 et C-16); 131.75 (C-13 et C-17). **¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)** : 7.69 (d, 1H, J = 3.2 Hz, H-5) ; 7.20 (t, 1H, J = 3.2 Hz, H-6); 7.54 (m, 1H,H-7);7.23(d,1H,J=6.8Hz,H-8);7.82(d,2H, J = 9.2 Hz H-13 et H-17) ; 7.77 (d, 2H, J = 9.2 Hz, H- 14 et H-16) ; 1.21 (s, 9H, 3CH₃) ; 13.89 (s, 1H, H). **m.p.** 178-180°C.

3.1.3. 3-(4-chlorobenzoyl)-4-hydroxycoumarine (c)

Solide jaune pâle, rendement : 72%, **IR** (cm⁻¹) : 3371 (O-H alcool) 1155 ; (C-O alcool) ; 1684 (C=O lactone) ; 1116 (C-O lactone) ; 1652 (C=O cétone) ; 1602 (C=C aromatique) 3032 (C-H aromatique); 716 (C-Cl). **¹³C-NMR (400 MHz, CDCl₃)** : 98.40 (C-3) ; 109.10 (C-10) ; 114.35 (C-6) ; 116.72 (C-8)

; 125.27 (C-7) ; 126.53 (C-5) ; 128.63 (C-14 et C-16); 131.74 (C- 13 et C-17); 136.89 (C-12); 139.38 (C-15); 149.43 (C-9); 159.20 (C-2) ; 171.48 (C-4); 190.11 (C-11). **DEPT 135°** : 114.35 (C-6) ; 116.72 (C-8) ; 125.27 (C-7) ; 126.53 (C-5) ; 128.63 (C-14 et C-16) ; 131.74 (C-13 et C-17). **¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)** : 7.82 (d, 1H, J =4Hz,H-5);7.35(m,2H,H-6 etH-8);7.64(t,J= 4Hz,1H,H-7);8.09(d,2H,J=8HzH-13etH-17); 7.94 (d, 2H, J = 10 Hz, H-14 et H-16) ; 14.51 (s, 1H, H). **m.p.** 235-238°C.

3.1.4. 3-(4-nitrobenzoyl)-4-hydroxycoumarine (d)

Solide jaune, rendement : 80%, **IR** (cm⁻¹) : 3372 (O- H alcool) 1155 ; (C-O alcool) ; 1684 (C=O lactone) ; 1115 (C-O lactone) ; 1652 (C=O cétone) ; 1601 (C=C aromatique) 3035 (C-H aromatique) ; 1349 (C-NO₂) ; 1524 (N-O). **¹³C-NMR (400 MHz, CDCl₃)** : 99.31(C-3) ; 110.33 (C-10) ; 114.31 (C-6) ; 116.73 (C- 8) ; 123.75 (C-7) ; 125.28 (C-5) ; 126.84 (C-14 et C-16) ; 128.98 (C-13 et C-17) ; 137.80 (C-12) ; 151.28 (-15) ; 146.05 (C-9) ; 156.19 (C-2) ; 169.95 (C-4) ; 191.02 (C-11). **DEPT 135°** : 114.31 (C-6) ; 116.73 (C-8) ; 123.75 (C-7) ; 125.28 (C-5) ; 126.84 (C-14 et C-16) ; 128.98 (C-13 et C-17). **¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)** : 7.91(d,1H,J=6.4Hz,H-5);7.40(m,1H,H-6 etH- 8);7.70(t,1H,J=6.4Hz,H-7);8.42(d,2H,J=6.4 HzH-13etH-17);8.29(d,2H,J=6.4Hz,H-14etH- 16) ; 14.62 (s, 1H, H). **m.p.** 263-265°C.

3.2. Discussion

Les points de fusion (Tf) des composés **a**, **b**, **c** et **d** ont été comparés avec ceux du réactif de départ (4-hydroxycoumarine) et ceux des produits intermédiaires O-acylés dont la plupart est connu [18]. On observe une grande différence entre les températures de fusion des composés C-acylés obtenus et celles des composés intermédiaires que sont les O- acylés. En effet, le passage des composés O-acylés (liaisons covalentes polaires O-C) aux composés C-acylés (formation des liaisons non polaires C-C et polaire O-H) entraîne une variation du point de fusion [19]. Ces résultats indiquent que les réactions envisagées se sont réalisées.

Infrarouge

Nous observons que dans les spectres IR des composés **a**, **b**, **c** et **d**, la bande de vibration O-H apparaît entre 3371 et 3373 cm⁻¹, cette bande est peu intense et moins large que celle d'une O-H liée. En effet, l'existence de conjugaison et de liaisons hydrogènes intramoléculaires rend la liaison O-H libre et diminue ainsi l'intensité de cette bande de vibration [20-22]. Toutes les molécules obtenues présenteraient des liaisons hydrogènes intramoléculaires justifiant ainsi l'apparition de bandes d'absorption attribuées aux liaisons O-H. Naceur Hamdi et ses collaborateurs ont observé ce phénomène dans le spectre IR des chromeno [4,3-c] pyrazol-4(1H)-ones [21]. Les autres bandes de vibration des composés synthétisés sont caractéristiques du noyau coumarine et sont : entre 1681 et 1689 cm⁻¹ (**vC=O**, lactone); 1650 et 1652 cm⁻¹ (**vC=O**, cétone), selon la littérature, ces bandes apparaissent entre 1690 et 1600 cm⁻¹ [23] ; entre 1601 et 1602 cm⁻¹ (**vC=C**, aromatique) [24]; 3032 et 3035 cm⁻¹ (**vC-H** aromatique) ; 1615 et 1616 cm⁻¹ (**vC-O**, lactone) ; 1154 et 1155 cm⁻¹ (**vC-O**, alcool) [25] pour l'ensemble des composés.

Nous observons en plus des bandes d'absorption du noyau coumarine, d'autres bandes que nous attribuons aux différents substituants des nouveaux composés obtenus. Ainsi, les bandes de vibration (C- H) aliphatique spécifiques à la 3-(4-méthylbenzoyl)- 4-hydroxycoumarine (a) et la 3-(4-tertiobutylbenzoyl)-4-hydroxycoumarine (b) sont situées à 2900 cm⁻¹. Les protons aliphatiques selon la littérature absorbent faiblement entre 2970 et 2880 cm⁻¹ [26], la bande de vibration (**vC-Cl**) dans 3-(4-chlorobenzoyl)-4-hydroxycoumarine (c) est à 716 cm⁻¹, cette bande est observable dans le domaine allant de 800 à 700 cm⁻¹ [23] et les bandes de vibration (**vC-NO₂**) et (**vN=O**) respectivement, à 1349 et à 1524 cm⁻¹ sont observables dans le spectre IR de la 3-(4- nitrobenzoyl)-4-hydroxycoumarine (d).

Selon les auteurs, ces bandes caractéristiques des liaisons C- NO₂ et N=O apparaissent entre 1360 et 1290 cm⁻¹ pour la liaison (C-NO₂) et entre 1555 et 1320 cm⁻¹ pour la liaison N=O.

Résonance Magnétique Nucléaire

La résonance magnétique nucléaire du carbone (RMN ¹³C) nous renseigne sur le nombre et les différents types d'atomes de carbones dans la structure de la molécule. Les attributions des signaux du spectre RMN ¹³C des différents composés ont été facilitées par l'exploitation des sous-spectres de la DEPT 135° et des données de la littérature [27]. En effet, dans un sous-spectre DEPT 135°, les signaux des carbones primaires et tertiaires (CH₃ et CH) sont en émission normale tandis que ceux des carbones secondaires (CH₂) sont en émission inversée. Les signaux manquants sont ceux des carbones quaternaires (non couplés à des protons). Par superposition des spectres de carbone 13 et de la DEPT 135° du même composé, nous avons attribué les carbones quaternaires et confirmé ainsi l'inexistence de carbones secondaires. Les carbones primaires sont reconnaissables du fait de leur blindage. Les carbones les plus blindés (carbones aliphatiques) apparaissent en général à des déplacements chimiques compris entre 8.69 et 55.57 ppm [8]. Nous les retrouvons dans les spectres des composés **a** et **b** respectivement à **27.51 ppm** correspondant au groupement méthyl et à **30.25 ppm** correspondant au groupement tertiobutyl. Les carbones des fonctions carbonyles sont les plus déblindés [28], ainsi le carbone 11 (carbonyle de la fonction cétone) est le plus déblindé. On s'attendait à ce que le carbone 2 (carbonyle de la fonction lactone) soit plus déblindé que le carbone 4 (carbone porteur de la fonction alcool), les déplacements chimiques observés ne confirment pas cela. Cette observation peut s'expliquer par les effets de mésomérie donneurs de l'atome d'oxygène du groupement lactonique qui augmentent le blindage du carbone 2. Cette remarque est faite dans le spectre RMN du bis(4-hydroxycoumarin) méthane [29]. Les carbones C-13 et C-17 d'une part et C-14 et C-16 d'autre part étant isochrones, ils résonnent aux mêmes déplacements chimiques.

De l'analyse des spectres RMN du proton, on peut faire les observations suivantes : les protons aliphatiques apparaissent à des déplacements chimiques compris entre 1,21 et 2.36 ppm. Ce sont les protons les plus blindés. On les retrouve dans les spectres des composés **a** (R = Me) et du composé **b** (R = t-Bu). Le proton le plus déblindé est celui de la fonction alcool, le déplacement chimique est compris entre 13.89 et 14.65 ppm. Ce déplacement chimique très élevé pourrait s'expliquer par deux phénomènes : l'existence de liaisons hydrogènes intermoléculaires et la forte conjugaison de la molécule [30]. Tous les autres protons sont aromatiques et résonnent entre 7,19 et 9,22 ppm. Les protons H-5, H-6, H-7 et H-8 du noyau coumarine sont moins influencés par le substituant R. Par contre les protons H-13, H-17 et H- 14, H-16, assez proches du substituant R sont influencés de façon notable par ce dernier. En effet, dans les composés **c** et **d** (R= Cl et R=NO₂ respectivement), on observe un déblindage plus important que dans les composés **a** et **b** (R = CH₃ et R = t-Bu respectivement). Ce phénomène est dû aux effets électroattracteurs et électro-donneurs respectivement dans les composés **c, d** et **a, b**.

Les résultats de la RMN du Carbone 13, de la DEPT 135° et ceux du proton ont été corrélés. Nous observons dans tous nos composés que le proton est d'autant plus déblindé que le carbone auquel il est lié l'est. Ainsi dans le composé **b** les carbones C-13-17; C- 14-16; C-5; C-7; C-8 et C-6 de déplacements chimiques respectifs (en ppm) 131.75; 128.63; 125.26; 125.25; 116.50 et 114.36 sont respectivement liés aux protons H-13-17; H-14-16; H-5; H-7; H-8 et H-6 dont les déplacements chimiques respectifs (en ppm) sont 7.82; 7.77; 7.69; 7.54; 7.23 et 7.20. Cette observation est notée sur l'ensemble des composés synthétisés.

L'examen des informations obtenues des spectres RMN nous a permis d'assigner les déplacements chimiques des différents protons et carbones de tous les nouveaux composés et d'en déduire leur structure du fait de la bonne corrélation entre la RMN du carbone 13 et celle du proton. Ces résultats confirment que les composés synthétisés ont été obtenus.

4. Conclusion

Nous avons synthétisé et isolé, pour la première fois et sous forme solide, les composés **a, b, c** et **d**. La qualité des résultats spectrométrique atteste que les produits obtenus sont suffisamment purs. En IR, nous avons pu mettre en évidence l'existence de liaisons hydrogènes dans tous les composés et identifié

les nouvelles bandes de vibration attribuables aux substituants. L'exploitation des résultats des spectrométries de RMN du Carbone 13, de la DEPT 135° et ceux du proton nous a permis d'assigner les déplacements chimiques des carbones et des protons de tous les produits ; ces résultats sont soutenus par une bonne corrélation entre les valeurs obtenues aussi bien en Infrarouge qu'en RMN ; ce qui nous a permis de faire des propositions de structure. Ce travail a donc permis de synthétiser quatre nouvelles molécules de dérivés coumarines.

Reference bibliographique

- [1] G. Cravotto, S. Tagliapietra, R. Cappello, G. Palmisano, M. Curini, and M. Boccalini, "Long-chain 3-acyl-4-hydroxycoumarins: Structure and antibacterial activity," *Arch. Pharm. (Weinheim)*, vol. 339, no. 3, pp. 129–132, 2006.
- [2] D. Z. Qiang, J. B. Shi, B. A. Song, and X. H. Liu, "Novel 2H-chromen derivatives: Design, synthesis and anticancer activity," *RSC Adv.*, vol. 4, no. 11, pp. 5607–5617, 2014.
- [3] O. M. Abdelhafez, K. M. Amin, R. Z. Batran, T. J. Maher, S. A. Nada, and S. Sethumadhavan, "Synthesis, anticoagulant and PIVKA-II induced by new 4-hydroxycoumarin derivatives," *Bioorganic Med. Chem.*, vol. 18, no. 10, pp. 3371–3378, 2010. [4] F. Bailly, C. Maurin, E. Teissier, H. Vezin, and P. Cotelle, "Antioxidant properties of 3-hydroxycoumarin derivatives," *Bioorganic Med. Chem.*, vol. 12, no. 21, pp. 5611–5618, 2004. [5] E. Muñoz, J. Alcamí, M. P. Gupta, and A. S. Feliciano, "3- Phenylcoumarins as Inhibitors of HIV-1 Replication," pp. 9245–9257, 2012.
- [6] M. M. Abdou, "3-Acetyl-4-hydroxycoumarin: Synthesis, reactions and applications," *Arab. J. Chem.*, vol. 10, pp. S3664–S3675, 2017, doi: 10.1016/j.arabjc.2014.04.005.
- [7] F. Bourgaud *et al.*, "Biosynthesis of coumarins in plants: A major pathway still to be unravelled for cytochrome P450 enzymes," *Phytochem. Rev.*, vol. 5, no. 2–3, pp. 293–308, 2006. [8] S. SOSSO, "Synthèse, Caractérisation Structurale et Etudes de la Fluorescence et du Pouvoir Reducteur d'une série de Composés D'Acylation de la Chroman-2,3-dione," Université Joseph KI-ZERBO, 2019.
- [9] S. Han *et al.*, "Identification of Coumarin derivatives as a novel class of allosteric MEK1 inhibitors," *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, vol. 15, pp. 5467–5473, 2005.
- [10] J. Yoda, S. Ouédraogo, and A. Saba, "2-oxo-2H-chromen- 3-yl Propionate and 2-oxo-2H-chromen-3-yl Acetate: Short-step Synthesis, Characterization and Fluorescence Properties," *Sci. J. Chem.*, vol. 7, no. 4, p. 77, 2019.
- [11] S. Sukdolak, S. Solujić, N. Manojlović, N. Vuković, and L. Krstić, "Hantzsch reaction of 3-(2-bromoacetyl)-4-hydroxy- chromen-2-one. Synthesis of 3-(thiazol-4-yl)-4-hydroxy coumarines," *J. Heterocycl. Chem.*, vol. 41, no. 4, pp. 593–596, 2004.
- [12] A. H. Fadia and M. Jomaa, "Studying of Pechmann Condensation Products of Ethyl Acetoacetate with 2, 7-Dihydroxynaphthalene," *Chem. Mater. Res.*, vol. 8, pp. 86–92, 2016.
- [13] F. Nowrouzi, "The synthetic utility of allylic trifluoroborate salts: reactions of Ketones and Indoles using montmorillonite, indium and lewis acid," Université de Toronto, 2011.
- [14] S. S. Bahekar and D. B. Shinde, "Samarium (III) catalyzed one-pot construction of coumarins," *Tetrahedon Lett*, vol. 45, pp. 7999–8001, 2004.
- [15] A. Saba, "Recherche dans la série de sels de benzopyrylium : Synthèse et étude de la structure des sels de 2-benzopyrylium", Thèse d'Etat ès-Sciences Physiques, Université de Ouagadougou, 1996.
- [16] A Djandé, "Etude des propriétés physico-chimiques des 4- acylisochroman-1,3-diones," Université de Ouagadougou, 2008. [17] H. Brahim, B. Mareiem, and B. Hassen, "Thème : Réarrangement de Fries et ses applications dans la synthèse organique," 2016.
- [18] A. Djandé, L. Cissé, J. Yoda, L. Kaboré, and F. Duvernay, "Synthesis and fluorescence study of a series of 4- hydroxycoumarin O-acylation derivatives.," *World J. Pharm. Pharm. Sci.*, vol. 8, no. 1, pp. 116–130, 2019.
- [19] D. Weigel, "Corrélation entre la liaison chimique et la structure des états vitreux et leurs propriétés thermodynamiques et cinétiques," *Rev. Phys. Appliquée*, vol. 12, no. 5, pp. 637–645, 1977.
- [20] D. Yarkony, "Molecular Structure," *Springer Handbooks*, vol. 348, no. I 995, pp. 467–489, 2006.
- [21] N. Hamdi, C. Fischmeister, M. C. Puerta, and P. Valerga, "A rapid access to new coumarinyl chalcone and substituted chromeno[4,3-c]pyrazol-4(1H)-ones and their antibacterial and DPPH radical scavenging activities," *Med. Chem. Res.*, vol. 20, no. 4, pp. 522–530, 2011.
- [22] G. Ohanessian, "INSTITUT GALILEE par Spectroscopie infrarouge couplée à la spectrométrie de masse pour la caractérisation en phase gazeuse de petits systèmes moléculaires neutres ou protonés," Université Paris XIII, 2004.
- [23] J. Coates, "Encyclopedia of Analytical Chemistry - Interpretation of Infrared Spectra, A Practical Approach," *Encycl. Anal. Chem.*, pp. 1–23, 2004, [Online]. Available: <http://www3.uma.pt/jrodrigues/disciplinas/QINO-II/Teorica/IR.pdf>.
- [24] J. Maillols, L. Bardet, and L. Maury, "Analyse vibrationnelle et structurale en série aliphatique insaturée," *J. Mol. Struct.*, vol. 30, no. 1, pp. 57–68, 1976

- [25] L. J. Bellamy, *Advances in Infrared Group Frequencies, Infrared Spectra of Complex Molecules*, Chapman&Ha. 1980.
- [26] J. P. Coates, "The interpretation of infrared spectra: Published reference sources," *Appl. Spectrosc. Rev.*, vol. 31, no. 1–2, pp. 179–192, 1996.
- [27] J. Roberts, *Nuclear Magnetic Resonance*, vol. 7, no. 11. California, 1959. [28] J. D. Roberts and H. W. Salzberg, *An Introduction to Spin-Spin Splitting in High Resolution Nuclear Magnetic Resonance Spectra*, W. A. Benj., vol. 109, no. 4. California, 1962.
- [29] M. Kidwai *et al.*, "Molecular iodine: A versatile catalyst for the synthesis of bis(4-hydroxycoumarin) methanes in water," *J. Mol. Catal. A Chem.*, vol. 268, no. 1–2, pp. 76–81, 2007. [30] R. Lopes, J. M. S. Cardoso, L. Postigo, and B. Royo, "Reduction of ketones with silanes catalysed by a cyclopentadienyl- functionalised N-heterocyclic iron complex," *Catal. Letters*, vol. 143, no. 10, pp. 1061–1066, 2013.

Groupe Thématique 3 (ReSAOA) : Sciences agroalimentaires

Nouveau procédé de détoxification des extraits d'amandes amères : cas de l'amande d'hévéa (*Hevea brasiliensis*)

Bamba Soualiho^{1*}, Adima AMISSA Augustin¹, Jean-Claude N'Guessan YAO¹, Kouwelton Patrick Franck Olivier Kone¹, Ouattara Leygnima Yaya¹

1.Laboratoire des Procédés Industriels et de Synthèses de l'Environnement et des Energies Nouvelles, Institut National Polytechnique Felix HOUPHOUËT BOIGNY, Yamoussoukro, Cote d'Ivoire

[Soualihobamba81@gmail.com*](mailto:Soualihobamba81@gmail.com)

Groupe Thématique : G T 3 (ReSAOA) : Réseau des Sciences Agroalimentaires Ouest-Africain

Résumé

L'acide cyanhydrique est la toxine qui empêche la plupart des amandes amères, d'être exploitées dans le domaine alimentaire, malgré leurs richesses en nutriments. Cette toxine depuis lors, fait subir le même sort aux extraits d'amandes d'hévéa (*Hevea basiliensis*), en occurrence l'huile, malgré sa riche en acides gras essentiels (oméga 3 et oméga 6) de 59,2%.

Dans ce travail, il s'agissait d'élaborer un procédé amélioré de production d'huile d'hévéa consommable. A cet effet, le dosage argentimétrie et spectrophotométrie, des cyanures totaux et libres dans les différents échantillons a été effectué à l'issus de chaque étape opératoire. L'organigramme opératoire présent dans cette étude, permet de réduire considérablement cette toxine.

A fin du procédé, il ne reste plus qu'environ de 0,5% (1,8mg/kg contre 2712,4mg/kg) de la teneur en cyanures totaux de cette amande, donc inférieure (<50mg/Kg), telle que recommandée par les normes aux sujets des amandes cyanogènes.

Mots clés : *Amandes amères ; détoxification ; acide cyanhydrique ; glycosides cyanogéniques ; Cyanures totaux ; huile d'hévéa.*

New process for the detoxification of bitter almond extracts : the case of *Hevea brasiliensis*

Abstract

Hydrocyanic acid is the toxin that prevents most bitter almonds from being used in food, despite their richness in nutrients. Since then, this toxin has had the same effect on *Hevea basiliensis* almond extracts, namely the oil, despite its richness in essential fatty acids (omega 3 and omega 6) of 59.27%.

In this work, the aim was to develop an improved process for the production of consumable rubber oil. To this end, the silver and spectrophotometric determination of total and free cyanides in the different samples was carried out at the end of each operating stage. The flow chart presented in this study allows for a considerable reduction of this toxin.

At the end of the process, only about 0.5% (13.56mg/kg against 2712.4mg/kg) of the total cyanide content of this kernel remains, thus lower (<50mg/Kg), as recommended by the standards for cyanogenic kernels.

Keywords: Bitter almonds; detoxification; hydrocyanic acid; cyanogenic glycosides; total cyanides; rubber tree oil.

1.Introduction

L'hévéa (*Hevea basiliens*) est une plante cultivée dans notre pays la Cote d'Ivoire, dans le seul but d'en extraire le LATEX pour produire du caoutchouc. En Côte d'Ivoire, ces plantations fournissent une grande quantité de graines, en moyenne 13 300 T/an, et 90% de cette production sont inexploités, restent au sol et polluent l'environnement. L'amande de cette plante représente à peu près 50% du poids de la graine totale. Quand elle est fraîche, elle contient 35 % d'humidité ; cette teneur diminue ensuite au fur et à mesure que la graine vieillie et peut descendre jusqu'à 6% (Gningnini Alain Koné, 2020). Après prétraitement, cette amande fournit en moyenne 44 à 52 % de lipides, et un tourteau riche en protéines (38,7%), avec 6 % de déchets divers (Atchibri, L, O et al ; 2008) ; (CNRA, 2018).

C'est dans le but de valoriser ces graines d'hévéa par leur huile que cette étude de détoxification est menée, car elle permettra ainsi de créer une valeur ajoutée à ce produit agricole (déchet agricole). Dans cette optique, il a été question pour nous de prétraitement l'amande afin de réduire considérablement sa teneur résiduelle en cyanures.

En effet, l'ion cyanure simple CN⁻ et l'acide cyanhydrique HCN sont les formes les plus toxiques par ingestion, par inhalation et par absorption cutanée des cyanures (CEAEQ, 2016).

Les amandes amères, sont connus par leurs potentiels riches en nutriments. Certaines parmi eux restent inexploitées du fait de leur composition en cyanure. C'est le cas pour l'amande d'hévéa, malgré qu'elle présente des éléments nutritifs importants pour l'équilibre de notre santé (les acides gras insaturés). Dans ces amandes amères, cette toxine est débarrassée à l'état de cyanure d'hydrogène (acide cyanhydrique), lors du prétraitement de l'amande et de la dégradation séquentielle des glycosides cyanogéniques. A titre d'exemple : par le passé, le manioc cyanogène subissait le même sort, mais aujourd'hui grâce au procédé de détoxification des tubercules de ce manioc, ses sous-produits tels que *l'attiéké*, *le placali*, sont inscrits sur la liste dans aliments de grande consommation (N'Zué et al., 2010) dans les pays d'Afrique subsaharienne, et à travers le monde (Augustin Koffi YAO et al, 2015). Dans le cas du manioc, l'hydrolyse de la linamarine a contribué fortement à la détoxification de cette denrée alimentaire (Ozun J, et al. 2014) ; (K. H Yéboué et al 2017).

Dans nos recherches les travaux de détoxification ont été réalisés à cet effet. Avant cette étape d'hydrolyse, les différentes opérations telles que, le séchage solaire de la graine puis de l'amande à l'étuve ont permis d'éliminer la teneur d'HCN libre. La macération du broyat et torréfaction du broyat sont autant d'opérations ayant contribué à débarrasser l'acide cyanhydrique de son état de combinaison.

L'optimisation de l'hydrolyse des cyanoglycosides par plan d'expérimentation que nous avons effectués dans ce travail a été l'étape déterminante. Elle a été réalisée selon un plan factoriel à deux niveaux, dans des conditions isothermes (différentes températures constantes), et parmi trois modèles élaborés, le modèle Y90 (90°C) présentait le rendement d'hydrolyse le plus intéressant (65%). La majorité des enzymes endogènes hydrolysant de l'amande, selon ce modèle se trouvent activées, pour libérer l'acide cyanhydrique. Le présent procédé, élaboré dans ce travail, présente un rendement 99,45% de détoxification des extraits d'amandes.

Lors de l'élimination de l'HCN (acide faible), l'entraînement à la vapeur du cyanure d'hydrogène libéré au cours de la décomposition de la cyanhydrine (mandélonitrile), est l'étape attentionnée, et qui demande beaucoup précautions, car il existe une réaction inverse de recombinaison, d'où l'entraînement à la vapeur. Ainsi la quantification de la teneur d'HCN éliminée a été réalisée, dans un milieu convenable au sorti d'un réfrigérant.

2. Matériel et méthodes

2-1. Matériel

Les graines d'hévéa « *Hevea brasiliensis* » ont été collectés sur les sites du Centre National de Recherches Agronomiques (CNRA) de man, Cote d'Ivoire. Après le séchage solaire et le décorticage des graines, les amandes (Figure a) ont été séché à l'étuve à 105°C, puis broyé (Figure b) pour être conservé dans des bouteilles étanches pour leur utilisation ultérieure. Certains échantillons ont été réalisés à l'issue de la fermentation alcoolique d'amande fraîche en milieu anaérobie. Cette méthode est une biotechnologie qui permet de détoxifier les aliments par hydrolyse acide des glycosides (Vinod Kumar et al 2019).

2-2. Méthodes

L'élaboration du procédé de détoxification des extraits d'amandes d'hévéa a été effectuée en évaluant la teneur de cyanures libres et cyanures totaux des différents échantillons, à l'issue des opérations suivantes : séchage de l'amande, fermentation de l'amande fraîche, la macération du broyat à froid et à chaud (50°C ; 70°C et 90°C), et la torréfaction du broyat par cuisson à la vapeur. L'acide cyanhydrique a été libéré par hydrolyse des cyanoglycosides puis dosé par spectrophotométrie en suivant la méthode de Rezaul Haque M et al en 2002, et aussi par la méthode argentimétrique de Liebig Denigès (1971), après entraînement à la vapeur du gaz cyanure d'hydrogène. Le dispositif pour entraîner l'acide cyanhydrique libéré était relié d'un côté à un générateur de vapeur d'eau et de l'autre coté à un réfrigérant permettant de recueillir l'acide cyanhydrique.

2-2-1. Macération du broyat

L'étape de macération du broyat pour libérer l'acide cyanhydrique de son état de combinaison s'est décliné en deux. A cet effet, certains échantillons ont été obtenue directement sur le broyat et d'autre

sur le broyat torréfié. Le ratio (2g/30ml) pour la macération, a été retenu à l'issu d'un plan d'expérimentation, lors de l'optimisation de l'hydrolyse des glycosides cyanogéniques.

2-2-2. Torrification du broyat

La torrification a été réalisé par cuisson à la vapeur d'eau en suivant le procédé de fabrication artisanal de *l'attiéké*. Pendant la phase de cuisson à la vapeur, le ratio de (1g/25mL) a été retenu à l'issu d'une série d'expérimentation. A cet effet, le temps maximal de cuisson se situait autour de 1h. Ensuite le broyat cuit à la vapeur a été soumis à la macération dans les mêmes conditions que précédemment.

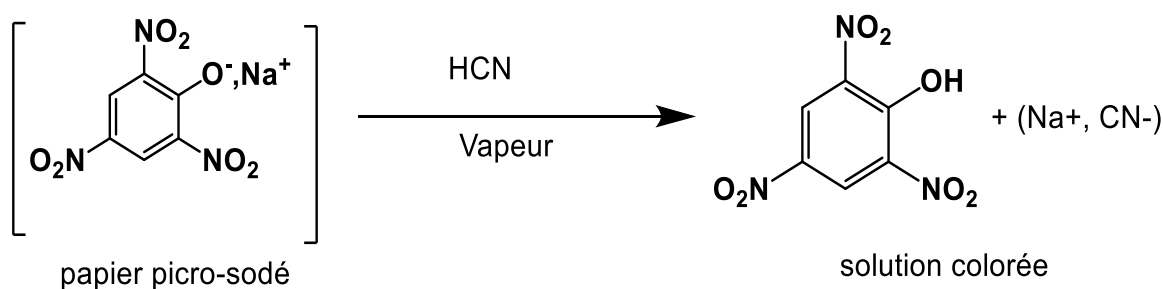
2-2-3. Fermentation de l'amande fraîche

Dans le souci d'éliminer tous les cyanures libres lors du prétraitement de l'amande. Il nous a paru utile d'intervenir en amont sur l'amande entière. A cet effet, la fermentation de l'amande entière, ratio (1g/5ml) a été réalisée en milieu anaérobie. L'acidité du surnageant des échantillons a été déterminée au moyen de PH-mètre (HANNA : « HI 8284 »). Et la quantification de l'HCN libéré par hydrolyse a été faite par dosage volumétrie selon la méthode de Leibig-Dénigès sus évoquée.

2-2-4. Dosage des cyanures libres

Quant à la détermination de la teneur des cyanures libres des différentes échantillons, certains ont été obtenues par dosage spectrophotométrie en suivant la méthode décrite par Rezaul Haque M et al en 2002. Au moyen d'un papier micro-sodé (Figure d), préalablement confectionné, des solutions colorées (Figure e) de cyanures de sodium obtenues, sont dosées par spectrométrie. Ainsi la teneur en cyanures libres des échantillons a pu être quantifier après dilution (1/10).

Le mécanisme d'obtention des échantillons pour ce dosage colorimétrique prévoit le schéma réactionnel suivant :



2-2-5. Dosage des cyanures totaux

Les cyanures totaux de l'amande d'hévéa ont été déterminés selon celle de la norme NT ISO 2164-1975 relative au dosage des hétérosides cyanogènes dans les légumineuses. Cette étape basée sur l'hydrolyse acide des glycosides cyanogéniques permet de doser tout le cyanure contenu dans l'amande (Emmanuel PUSKARCZYK ;2006). Le dosage des cyanures totaux, nous a permis d'apprécier chaque étape opératoire, grâce aux rendements d'HCN libéré.

2-2-6. Elaboration du procédé de détoxification

A l'issus des différentes étapes opératoires, sur la base des rendements de détoxification fournis, le cumul de toutes ces opérations a été réalisé. Après la quantification de la teneur d'HCN libéré, par succession d'opération, la teneur résiduelle d'HCN dans les échantillons présentait un résultat satisfaisant. Cela s'est soldé par l'organigramme ci-dessous, qui donne de façon détaillée les grandes actions à mener pour détoxifier les extraits d'amandes amères dans un contexte alimentaire.

3. Résultats et discussion

3-1. Macération du broyat

La macération, réalisée sur les broyats a fait l'objet d'un suivi sur une durée de 8h. Elle a été effectuée dans de l'eau distillée à température ambiante. Les surnageants ont été recueillis puis dosés après hydrodistillation. L'acide cyanhydrique libéré a été quantifié par dosage argentimétrie selon la méthode de Liebig Dénigès, (1971). Les échantillons ont été dosés par une solution de nitrate d'argent (0,02N), en présence de solution d'ammoniac (10%) et une solution de KI (5%) jusqu'à trouble opalescente persistante. A ce niveau l'acide cyanhydrique entraîné a été piégé d'abord par une solution de soude (0,02N). La Teneur de HCN pour 100 g de matière sèche est déterminée par l'expression :

$$T [\%] = \frac{V \times 100 \times 0,0054}{m}$$

V (volume de nitrate d'argent versé)

m (masse pesée de broyat)

Cette série d'opérations présentait une durée maximale de 4h de macération pour optimiser l'hydrolyse biochimique des glycosides cyanogènes, afin de libérer l'acide cyanhydrique.

Après 4h de macération, la teneur d'acide cyanhydrique pouvant être débarrassé est optimale ([diagramme 1 et 2](#)), et se situait à $(442,2 \pm 0,7 \text{ mg/kg})$ pour le broyat non cuit et la teneur résiduelle de HCN dans le filtrat était de $(178,9 \pm 2,3 \text{ mg/kg})$. Pour le broyat cuit à la vapeur (1h de cuisson), cette teneur d'HCN était de $(469,7 \pm 1,9 \text{ mg/kg})$, avec une teneur résiduelle dans le filtrat égale à $151,9 \pm 1,5 \text{ mg/kg}$. La cuisson à la vapeur à 90° C , s'est présenté comme une étape à ne pas négliger dans le procédé de libération de HCN des glycosides lors de la macération.

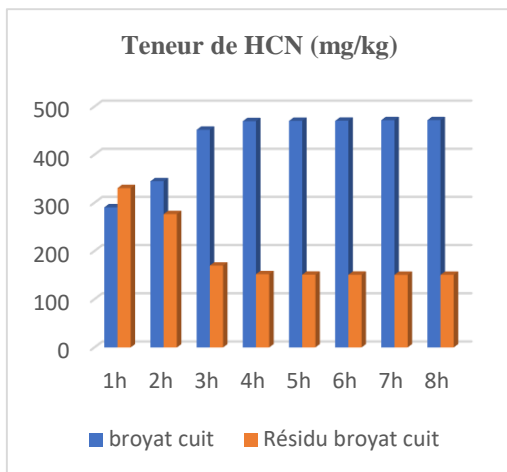


Diagramme 1

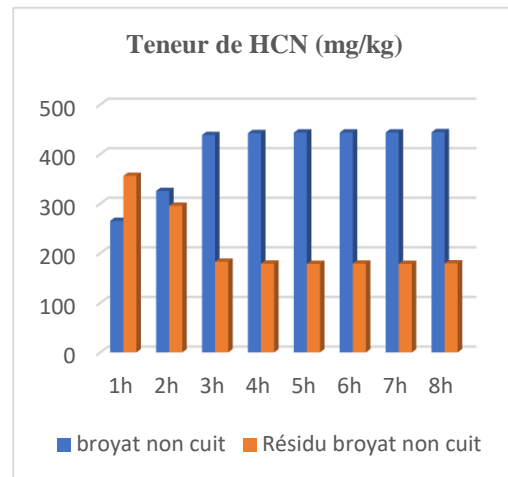


Diagramme 2

Beaucoup d'études sur la β -glycosidase de l'amande douce (*amygdalus comminus L.*) sont trop anciennes, il reste donc difficile, voire même impossible la plupart des cas d'utiliser ces résultats dans un but comparatif. Néanmoins elles concordent sur le fait que l'émulsine d'amande permet d'hydrolyser ses glycosides (A.S. Silitonga et al, 2016) afin débarrasser l'acide cyanhydrique. Cette hydrolyse biochimique favorise la synergie d'action de tous les enzymes endogènes de l'amande.

L'optimisation de l'hydrolyse des cyanoglycosides afin de libérer l'acide cyanhydrique de son état de combinaison hétérosidique, présentait des résultats satisfaisants (Tableau 2). Le contexte alimentaire a fait que, nous avons travaillé à température constante (50°C, 70°C, 90°C), pour conserver les propriétés nutritionnelles de l'huile que nous recherchons. A cet effet, l'influence des facteurs étudiés étaient : la masse du broyat, le volume d'eau distillée, la durée d'agitation et la vitesse d'agitation. Trois modèles mathématique isothermes : Y50 ; Y70 et Y90 ont été élaborés pendant cette étape. Le tableau 2 suivant présente le domaine expérimental du modèle Y50 réalisé à 50°C, et les teneurs d'acide cyanhydrique des différentes échantillons obtenues par dosage spectrophotométrie à 540nm.

Tableau 2 : Plan factoriel 2⁴ : réalise à 50 °C sur l'amande broyat d'hévéa à un taux d'humidité H (%) = (10,4 ±0,5).

N°3 (T=50°C)	Domaine Expérimentale du plan 2 ⁴	
Niveau	-1	+1
X ₁ (A) : masse du broyat (g)	3	8
X ₂ (B) : volume d'eau distillée (ml)	50	200
X ₃ (C) : durée de l'agitation (min)	30	60
X ₄ (D) : vitesse d'agitation (tr/min)	40	60

Domaine expérimentale du plan factoriel deux à 4 niveaux

Lors du dosage spectrophotométrie, la teneur d'acide cyanhydrique est calculée avec l'expression :

$$\text{HCN (mg/Kg)} = 420 * A * 100 / pe$$

Après criblage des facteurs selon la significativité de leurs influences sur la réponse expérimentale, sur la base des p-values ($P < 0,05$), la durée d'agitation, la vitesse d'agitation et la masse volumique ont été les facteurs déterminants. Au cours d'une étude comparative des trois modèles isothermes pendant 80 minutes d'hydrolyse, le modèle Y90 présentait le rendement d'hydrolyse biochimique des glycosides cyanogéniques le plus intéressant de 65% contre 55% pour Y70 et 51% pour Y50. L'analyse des données par la méthode de Pareto (diagramme 3), a révélé que les facteurs durés d'agitation et la masse volumique de l'émulsine sont les facteurs ayant une influence significative au-delà de la température.

Diagramme de Pareto hiérarchisant les facteurs selon leur effet significatif

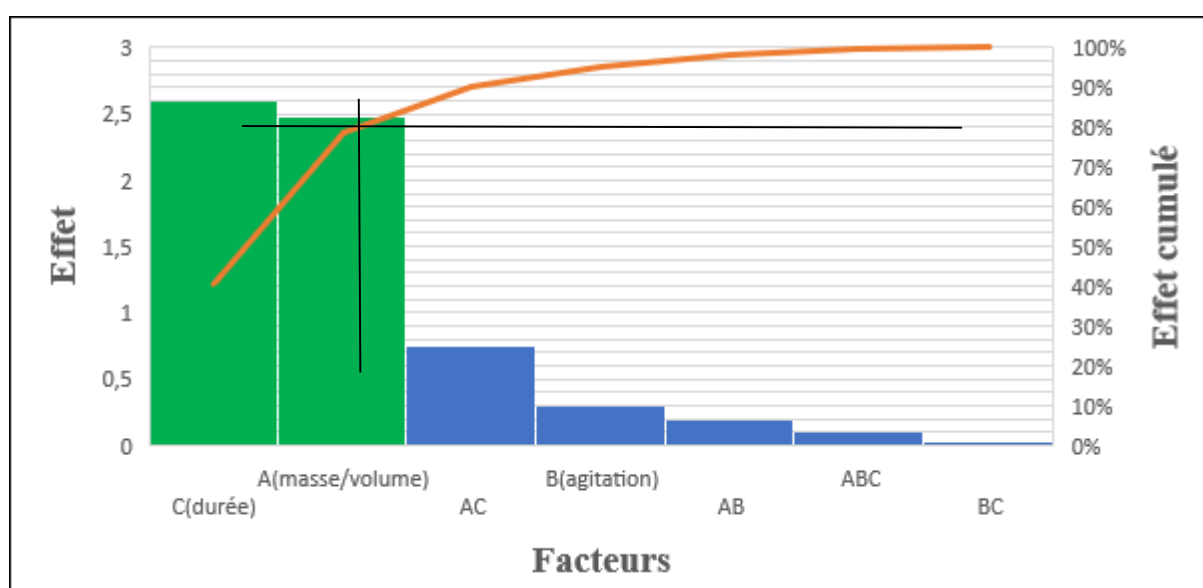


Diagramme 3 : l'influence des facteurs sur le domaine expérimental du modèle Y90

Tout comme confirmés précédemment, les deux facteurs A et C reste les seuls à contrôler pour optimiser la détoxification des extraits d'amande d'hévéa (diagramme 3). A cette température de 90°C, le facteur A vient en second plan avec un poids statistique de 38,37% après les 40,32% du facteur C.

L'expression mathématique du modèle à l'issue des analyses statistiques des donnée est l'équation suivante :

$$Y90 = 6,8132875 - 2,4734375 * XA + 2,5989125 * XC.$$

Le model Y90 donnait un rendement (65%) dans ces conditions optimums : (2g/30ml) ; (80min) et (50tr/min), lors de l'hydrolyse biochimique des glycosides cyanogènes, dont l'amygdaline également. Le séchage à température ambiante (37°C) pendant 24h du filtrat issu de cette hydrolyse ne présentait plus que 3,35mg/kg de HCN résiduel. Dans le contexte alimentaire, le présent modèle Y90 isotherme (90°C) serait l'idéal pour détoxifier les aliments cyanogène.

3-2. Dosage des cyanures totaux

Les cyanures totaux de l'amande entière d'hévéa « *Hevea brasiliensis* » ont été déterminé selon la norme NT ISO 2164-1975 relative au dosage des hétérosides cyanogènes dans les légumineuses (Chaouali Nadia, 2013). A cet effet, cinq essais ont été réalisés en macérant en 4h, dans un ballon de 1l, une prise d'essai de 20g de broyat dans 50ml d'eau distillée, suite à un ajout de 10ml de solution d'acétate de sodium 0,02N. Le ballon est ensuite incubé après cette étape de macération à l'étuve à 50°C durant 12h.

Après avoir retiré le ballon, puis refroidir, 80ml d'eau distillée sont ajoutés au macérat. L'acide cyanhydrique libéré est recueilli par hydrodistillation (entraînement à la vapeur). Le distillat est recueilli dans un erlenmeyer de 250ml contenant 50ml de solution de nitrate d'argent 0,02N et 1ml d'acide nitrique. Pour le dosage des cyanures totaux des différents échantillons, le distillat recueilli est dilué au 1/5 dans une fiole puis dosé par une solution de thiocyanate d'ammonium (0,02N) en présence 2ml solution saturée de sulfate double de fer III et d'ammonium, indicateur de fin de dosage donnant une couleur rouge-brique persistant. La teneur d'acide cyanhydrique par kilogramme d'échantillon (ppm) est calculée avec l'expression :

$$\text{HCN (mg/kg)} = 0,54 (V2-V1) *500*1000/250M$$

V1 : volume en ml de thiocyanate d'ammonium versé lors de la prise d'essai

V2 : volume en ml de thiocyanate d'ammonium versé lors de l'essai à blanc

M : masse en gramme de la prise d'essai.

Les résultats révèlent que l'amande d'hévéa « *Hevea brasiliensis* », le clone PB*260 (zone de Man, Cote d'Ivoire) contient une teneur en cyanures totaux pouvant atteindre 2712,35 mg/kg, teneur qui est très élevée, dans le contexte alimentaire. Cette teneur confirme que cette amande, ainsi que ses extraits exposeraient aux risques de toxicité aiguë voir même sévère en cas de consommation. Il paraît nécessaire d'alerter sur ses risques d'intoxication en cas de consommation des extraits d'amande d'hévéa. Néanmoins, l'analyse de l'EFSA publiée en 2018, le prévoyait au vu des incertitudes sur les seuils de toxicité des cyanures chez l'homme, il existe vraisemblablement une marge de sécurité de l'Arfd (Dose de référence aiguë en mg/Kg. Pc) (Juliette Bloch, 2018). Avec ce canevas de crédit, la réduction de la teneur résiduelle dans le broyat à une teneur inférieure à 3,35mg/kg (Organigramme du procédé), permettrait de qualifier l'huile d'hévéa comme une huile alimentaire.

Les travaux de toxicologie récents suggèrent que la physiologie humaine autorise des concentrations en cyanures jusqu'à 100 ng/mL chez les fumeurs (Frédéric Lapostolle ; Yves Lambert 2020). Dans ces conditions, cette méthode s'intègre parfaitement dans l'objectif d'une expertise toxicologique de référence. Si une sensibilité plus importante est nécessaire, la chromatographie liquide, avec détection fluorimétrique (ou par spectrométrie de masse (P.Kintz, et al ; 2015) pourra être employée.

3-3. Fermentation de l'amande fraîche

La cyanogénèse de l'amande d'hévéa, a été évaluée lors de la fermentation de l'amande fraîche sur deux semaines avec un ratio (1g/5ml) en milieu anaérobie. Le dosage spectrophotométrie en suivant la méthode de **Rezaul Haque M et al, 2002** a été employé à cet effet. Les différents échantillons à doser sont obtenue par capture du gaz cyanure d'hydrogène au moyen d'un papier micro-sodé préparé au préalable par immersion de papier Watchman (1cmx4cm), dans une solution d'acide picrique 1,2 %, puis dans une solution de carbonate de sodium 5%. Après détection par le papier, l'élution de celui-ci dans 5ml d'eau distillée fournit des solutions colorées, de cyanure de sodium obéissantes à la loi de Beer-Lambert ($A = \epsilon \cdot l \cdot c$).

La cuisson à la vapeur d'eau du broyat est une pratique, anciennement connues, dans notre travail, elle fournissait un broyat torréfié, et indiquait une teneur résiduelle en cyanure de $14,28 \pm 1,5 \text{ mg/kg}$ en fin de processus. Avec ce résultant, cette production d'huile d'hévéa détoxifiée est donc réalisable en suivant ces différentes étapes du procédé. Dorénavant, cette alternative de détoxification était consignée dans le **Codex Alimentarius de 2013** concernant les voix de fabrication des aliments à partir des végétaux cyanogéniques. L'huile qui en découle est siccative, riche en nutriments (acides gras essentiels), donc peut servir à d'autres fins telles que l'enrichissements en oméga 3 et 6 de d'autres matières grasses par exemple.

Ce procédé de détoxification ([Figure g](#)) qui vise à prétraiter l'amande avant la production des extraits (tourteaux, et huile), présente des caractères novateurs au sens qu'il n'utilise pas trop de produits chimiques. Les lipides qui en découlement, pourraient être qualifiés comme étant détoxifiés de l'acide cyanhydrique aux regards des normes alimentaires, car ceux-ci sont extraient sur un broyat dont teneur en cyanure est inférieur à ($< 50 \text{ mg/kg}$) telle que recommandé par la **FAO/WHO en 2016** dans le cas des amandes consommables, et le résidu des cyanures dans les extraits (traces) serait sans danger pour l'organisme humain ([Scicom, 2016](#)), Car la doseLa dose orale létale signalée pour le cyanure chez les humains est de l'ordre de 0,5 à 3,5 mg/kg de poids corporel ou de 50 à 200 mg ([Younes Zebbiche et al 2013](#)).

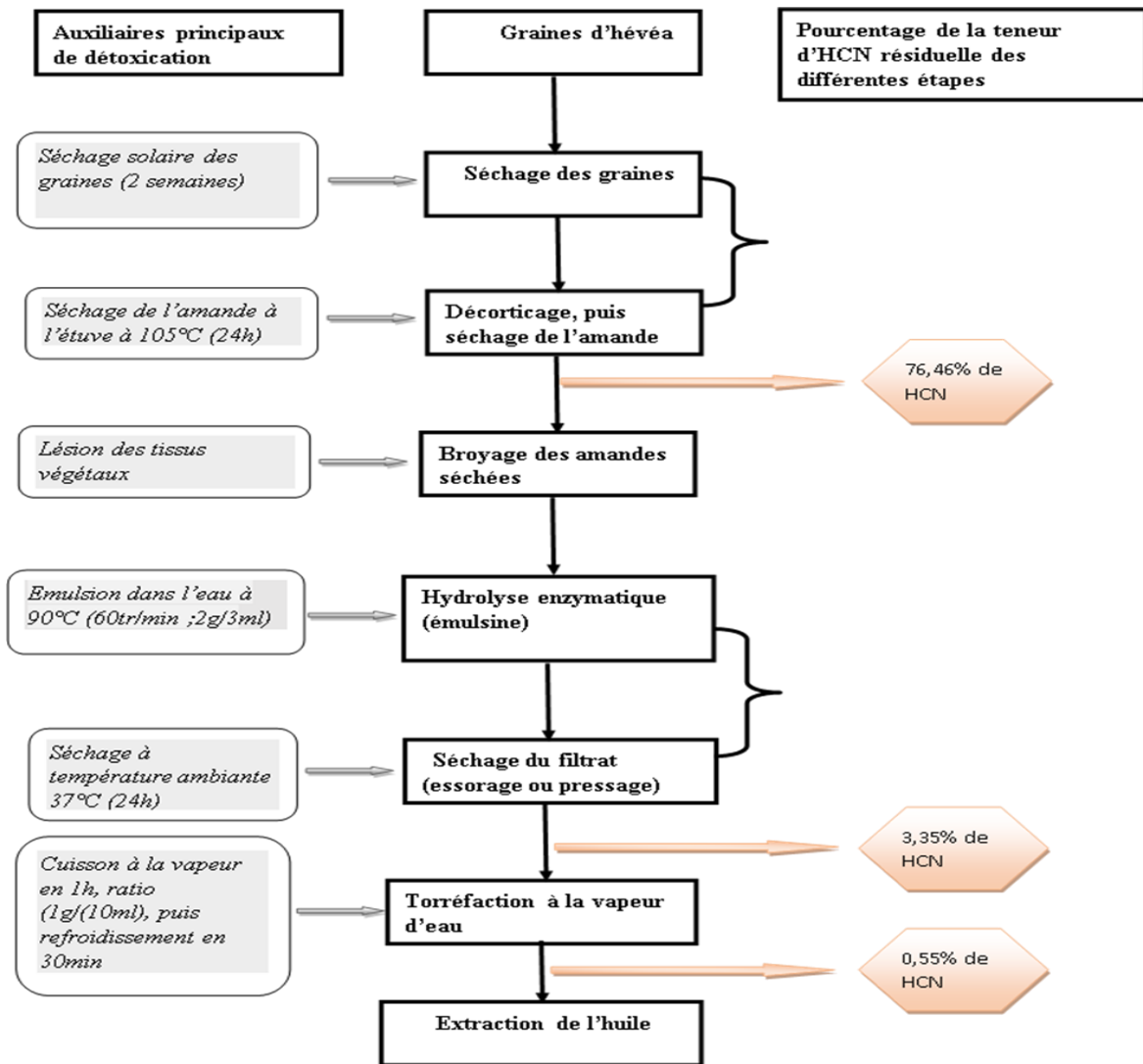


Figure g : Organigramme pour la détoxification des extraits d'amandes amères

Conclusion

La détoxification des extraits d'amande amère à des fins alimentaires est possible. Elle peut se dérouler en suivant les étapes opératoires sus-évoquées qui tiennent compte des facteurs tels que : la température, la granulométrie du broyat, le ratio masse broyat/ volume d'eau. Car l'acide cyanhydrique qui se trouve bloqué à l'état de combinaison est libéré dans ces conditions qui optimise l'hydrolyse des cyanoglycosides. Dans notre étude, l'extrait que nous visions est l'huile d'hévéa. Ce procédé de détoxification a permis de réduire la teneur résiduelle d'HCN du broyat jusqu'à une teneur 1,8mg/kg grâce à l'optimisation de l'hydrolyse de ces hétérosides selon le modèle Y90, permettant ainsi de produire une huile d'hévéa consommable.

En perspective, nous voulons valoriser les sous-produits agricoles, notamment les graines d'hévéa, en créant une valeur ajoutée à ce matériel végétal, cela permettrait d'améliorer le revenu de nos planteurs et de protéger l'environnement (la faune et la flore) contre cette toxine d'acide cyanhydrique.

Références bibliographiques

Atchibri, L.O., Atcho, O., Kouakou, B., Keli, J., 2008. La graine d'hévéa appauvrie en acide cyanhydrique par la méthode de triple séchage offre un tourteau propre à la consommation de la poule pondeuse. *Revue Africaine de santé et de productions Animales*, **6** (3-4), 195-198.

FAO/WHO (Food and Agricultural Organization/World Health Organization), 2012. Safety evaluation of certain food additives and contaminants prepared by the seventy-fourth meeting of the joint FAO/WHO expert committee on food additives. *WHO food Additives Series*, **65**, 1-833.

Friedman M., Potato glycoalkaloids and metabolites: Roles in the plant and in the diet, *J. Agric. Food Chem.*, 2006, **54**(23), p. 8655. [14]

Barel G., Ginzberg I., Potato skin proteome is enriched with plant defence components, *J. Exp. Bot.*, 2008, **59**(12), p. 3347.

Li, H., Jiang, D., Liu, W., Yang, Y., Zhang, Y., Jin, C., & Sun, S. (2020). Comparison of fermentation behaviors and properties of raspberry wines by spontaneous and controlled alcoholic fermentations. *Food Research International*, **128**, Article 108801. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108801>.

Gningnini Alain Kone. Effet de l'incorporation de tourteaux de graines d'hévéa (*Hevea brasiliensis*) ou de tourteaux d'anacarde (*Anacardium occidentale*) sur les performances de pintades (*Numida meleagris*) en Côte d'Ivoire. *Science des productions animales*. Agrocampus Ouest, 2019. Français. NNT : 2019NSARC143ff. fftel-02787338f

Didier Snoeck,*, Régis Lacotea, Jules Kéli b, Amadou Doumbiac, Thierry Chapuset a, Patrick Jagoret d, Éric Gohet . Association of hevea with other tree crops can be more profitable than hevea monocrop during first 12 years 013. CIRAD, TA B34/02 – Avenue Agropolis – 34398, Montpellier Cedex 5, France b CNRA (Centre National de la Recherche Agronomique), Km17, Route de Dabou – 01 BP 1740 Abidjan 01, Côte d'Ivoire.

Amani, G., Nindjin, C., N'zué, B., Tschannen, A., & Aka, D. (2007). Potentialités à la transformation du manioc (*Manihot esculenta crantz*) en Afrique de l'Ouest. *Actes du 1er Atelier International*, p 358

Ozun J, et al. Un cas d'intoxication pédiatrique en Martinique par ingestion de feuilles crues de manioc. *Toxicologie Analytique & Clinique* (2014), <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxac.2014.04.006>.

CEAEQ (CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC). Détermination des cyanures : méthode colorimétrique automatisée avec l'acide isonicotinique et l'acide barbiturique – distillation manuelle, MA. 300 – CN 1.2, Rév. 4, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques du Québec, 2016, 26 p

SciCom (COMITE SCIENTIFIQUE de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire), 2016. Proposition d'une limite d'action pour l'acide cyanhydrique dans les amandes d'abricot amères et douces. AVIS RAPIDE 11-2016. P5-25

Leibig-Denige, 1971. Dosage de l'acide cyanhydrique. Meled. Landbouw Hogeschool : Wageningen 71, 13p.

Augustin Koffi YAO1 , Djary Michel KOFFI2*, Sika Hortense BLEI2 , Zaouli Bi IRIÉ1 et Sébastien Lamine NIAMKE, 2015. Propriétés biochimiques et organoleptiques de trois mets traditionnels ivoiriens (attiéké, placali, attoukpou) à base de granulés de manioc natifs. Available online at <http://ajol.info/index.php/ijbcs> Int. J. Biol. Chem. Sci. 9(3): 1341-1353, June 2015 ISSN 1997-342X (Online), ISSN 1991-8631 (Print).

Poulton JE, 1990. Cyanogenesis in plants. Plant physiology ; 94 :401-405.

Norme internationale ISO 2164. Pulses-Determination of glycosidic hydrocyanic acid. Première édition-1975-09-15.

Kone G, A ; Kouakou D, V ; A-k E, M ; Kouame K, B ; Yeboue F ; Kouba D'anacadre Et De Pourghère Chez Les Porcs Durant La Gestation Et La Lactation. *European Scientific Journal* Octobre 2016 édition vol.12.No.30 ISSN : 1857-7881 (Print) e-ISSN 1857-7431.

Bolarinwa I.F., Orfila C., Morgan M.R. 2014. Amygdalin content of seeds, kernels and food products commercially available in the UK. *Food Chemistry*, 152, 133–139.

FAO/WHO (Food and Agricultural Organization/World Health Organization), 2012. Safety evaluation of certain food additives and contaminants prepared by the seventy-fourth meeting of the joint FAO/WHO expert committee on food additives. *WHO Food Additives Series*, 65, 1–833.

J. Langrand, M. Labadie, I. Blanc-Brisset, J. Bloch ;2018. Intoxications par les amandes amères d'abricots. Centre antipoison et de toxicovigilance, hôpital Fernand-Widal, Paris, France. Centre antipoison et de toxicovigilance, CHU Pellegrin Tripode, Bordeaux, France. ANSES, Maisons-Alfort, France. Adresse e-mail : jerome.langrand@aphp.fr (J. Langrand)

Hernandez-Orte, P.; Cersosimo, M.; Loscos, N.; Cacho, J.; Garcia-Moruno, E.; Ferreira, V. The development of varietal aroma from non-floral grapes by yeasts of different genera. *Food Chem.* 2008, 107, 1064-1077.

EFSA CONTAM Panel (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain), 2016. Scientific opinion on the acute health risks related to the presence of cyanogenic glycosides in raw apricot kernels and products derived from raw apricot kernels. *EFSA Journal* 2016;14(4):4424, 47 pp.[doi:10.2903/j.efsa.2016.4424](https://doi.org/10.2903/j.efsa.2016.4424).

A.S. Silitongaa,b, H.H. Masjuki a, Hwai Chyuan Onga,*, Talal Yusaf c, F. Kusumoa, T.M.I. Mahlia d, 2016. Synthesis and optimization of Hevea brasiliensis and Ricinus communis as feedstock for biodiesel production: A comparative study a Department of Mechanical Engineering, Faculty of Engineering, University of Malaya, 50603 Kuala Lumpur, Malaysia b Department of Mechanical Engineering, Medan State Polytechnic, 20155 Medan, Indonesia c National Centre for Engineering in Agriculture, Faculty of Engineering and Surveying, University of Southern Queensland, Toowoomba, QLD 4350,

Juan Cacho, 2018. Nouvelles acquisitions sur l'hydrolyse des composés glycosidiques dans le vin. Universidad Zaragoza, Pedro Cerbuna 12, 5009 ZARAGOZA, Espagne. E-mail : jcacho@unizar.es

Emmanuel PUSKARCZYK Le 7 novembre 2006. Aspects toxicocinétiques, toxicodynamiques et thérapeutiques actuels de l'intoxication aiguë à l'ion cyanure. *THESE de DOCTEUR EN MEDECINE*, Université HENRI POINCARÉ NANCY 1, 2006. Volume 221-p24-45.

Louise A. OCHO., Dago GNAKRI., Jules Z. KELI., Daniel BOA., Soualiho SYLLA.2001 Effet clonal sur la production et la composition chimique de la graine d'hévéa. *J. Soc Ouest-Afr. Chim*, 011.

CAC/RCP 73-2013. Code d'usage pour la réduction de l'acide cyanhydrique (HCN) dans le manioc et les produits à base de manioc. Page 1-15

N'Zué B, Zohouri PG et Sangaré A, 2004. Performance agronomique de quelques variétés de manioc de trois zones agro climatique de côte d'Ivoire. *Agron. Afr.*, **16** ; 1-7.

Nouveau procédé de détoxification des extraits d'amandes amères : cas de l'amande d'hévéa (*Hevea brasiliensis*)

Bamba Soualiho^{1*}, Adima AMISSA Augustin¹, Jean-Claude N'Guessan YAO¹, Kouwelton Patrick Franck Olivier Kone¹, Ouattara Leygnima Yaya¹

1.Laboratoire des Procédés Industriels et de Synthèses de l'Environnement et des Energies Nouvelles, Institut National Polytechnique Felix HOUPHOUËT BOIGNY, Yamoussoukro, Cote d'Ivoire

Soualihobamba81@gmail.com*

Groupe Thématique : G T 3 (ReSAOA) : Réseau des Sciences Agroalimentaires Ouest-Africain

Résumé :

L'acide cyanhydrique est la toxine qui empêche la plupart des amandes amères, d'être exploitées dans le domaine alimentaire, malgré leurs richesses en nutriments. Cette toxine depuis lors, fait subir le même sort aux extraits d'amandes d'hévéa (*Hevea basiliens*), en occurrence l'huile, malgré sa riche en acides gras essentiels (oméga 3 et oméga 6) de 59,2%.

Dans ce travail, il s'agissait d'élaborer un procédé amélioré de production d'huile d'hévéa consommable. A cet effet, le dosage argentimétrie et spectrophotométrie, des cyanures totaux et libres dans les différents échantillons a été effectué à l'issus de chaque étape opératoire. L'organigramme opératoire présent dans cette étude, permet de réduire considérablement cette toxine. A fin du procédé, il ne reste plus qu'environ de 0,5% (1,8mg/kg contre 2712,4mg/kg) de la teneur en cyanures totaux de cette amande, donc inférieure(<50mg/Kg), telle que recommandée par les normes aux sujets des amandes cyanogènes.

Mots clés : *Amandes amères ; détoxification ; glycosides cyanogéniques ; huile d'hévéa.*

New process for the detoxification of bitter almond extracts : the case of *Hevea brasiliensis*.

Abstract

Hydrocyanic acid is the toxin that prevents most bitter almonds from being used in food, despite their richness in nutrients. Since then, this toxin has had the same effect on *Hevea basiliens* almond extracts, namely the oil, despite its richness in essential fatty acids (omega 3 and omega 6) of 59.27%.

In this work, the aim was to develop an improved process for the production of consumable rubber oil. To this end, the silver and spectrophotometric determination of total and free cyanides in the different samples was carried out at the end of each operating stage. The flow chart presented in this study allows for a considerable reduction of this toxin.

At the end of the process, only about 0.5% (13.56mg/kg against 2712.4mg/kg) of the total cyanide content of this kernel remains, thus lower (<50mg/Kg), as recommended by the standards for cyanogenic kernels.

Keywords: Bitter almonds; detoxification; cyanogenic glycosides ; rubber tree oil.

Introduction

L'hévéa (*Hevea basiliens*) est une plante cultivée dans notre pays la Côte d'Ivoire, dans le seul but d'en extraire le LATEX pour produire du caoutchouc. En Côte d'Ivoire, ces plantations fournissent une grande quantité de graines, en moyenne 13 300 T/an, et 90% de cette production sont inexploités, restent au sol et polluent l'environnement. L'amande de cette plante représente à peu près 50% du poids de la graine totale. Quand elle est fraîche, elle contient 35 % d'humidité ; cette teneur diminue ensuite au fur et à mesure que la graine vieillit et peut descendre jusqu'à 6% [1]. Après prétraitement, cette amande fournit en moyenne 44 à 52 % de lipides, et un tourteau riche en protéines (38,7%), avec 6 % de déchets divers [2], [3].

C'est dans le but de valoriser ces graines d'hévéa par leur huile que cette étude de détoxification est menée, car elle permettra ainsi de créer une valeur ajoutée à ce produit agricole (déchet agricole). Dans cette optique, il a été question pour nous de prétraitement l'amande afin de réduire considérablement sa teneur résiduelle en cyanures.

En effet, l'ion cyanure simple CN⁻ et l'acide cyanhydrique HCN sont les formes les plus toxiques par ingestion, par inhalation et par absorption cutanée des cyanures [4].

Les amandes amères, sont connus par leurs potentiels riches en nutriments. Certaines parmi eux restent inexploitées du fait de leur composition en cyanure. C'est le cas pour l'amande d'hévéa, malgré qu'elle présente des éléments nutritifs importants pour l'équilibre de notre santé (les acides gras insaturés). Dans ces amandes amères, cette toxine est débarrassée à l'état de cyanure d'hydrogène (acide cyanhydrique), lors du prétraitement de l'amande et de la dégradation séquentielle des glycosides cyanogéniques. A titre d'exemple : par le passé, le manioc cyanogène subissait le même sort, mais aujourd'hui grâce au procédé de détoxification des tubercules de ce manioc, ses sous-produits tels que *l'attiéké*, *le placali*, sont inscrits sur la liste des aliments de grande consommation [5] dans les pays d'Afrique subsaharienne, et à travers le monde [6]. Dans le cas du manioc, l'hydrolyse de la linamarine a contribué fortement à la détoxification de cette denrée alimentaire [7],[8].

Dans nos recherches les travaux de détoxification ont été réalisés à cet effet. Avant cette étape d'hydrolyse, les différentes opérations telles que, le séchage solaire de la graine puis de l'amande à l'étuve ont permis d'éliminer la teneur d'HCN libre. La macération du broyat et torréfaction du broyat sont autant d'opérations ayant contribué à débarrasser l'acide cyanhydrique de son état de combinaison. L'optimisation de l'hydrolyse des cyanoglycosides par plan d'expérimentation que nous avons effectués dans ce travail a été l'étape déterminante. Elle a été réalisée selon un plan factoriel à deux niveaux, dans des conditions isothermes (différentes températures constantes), et parmi trois modèles élaborés, le modèle Y90 (90°C) présentait le rendement d'hydrolyse le plus intéressant (65%). La majorité des enzymes endogènes hydrolysant de l'amande, selon ce modèle se trouvent activées, pour libérer l'acide cyanhydrique. Le présent procédé, élaboré dans ce travail, présente un rendement 99,45% de détoxification des extraits d'amandes.

Lors de l'élimination de l'HCN (acide faible), l'entraînement à la vapeur du cyanure d'hydrogène libéré au cours de la décomposition de la cyanhydrine (mandélonitrile), est l'étape attentionnée, et qui demande beaucoup de précautions, car il existe une réaction inverse de recombinaison, d'où l'entraînement à la vapeur. Ainsi la quantification de la teneur d'HCN éliminée a été réalisée, dans un milieu convenable au sorti d'un réfrigérant.

2. Matériel et méthodes

2-1. Matériel

Les graines d'hévéa « *Hevea brasiliensis* » ont été collectés sur les sites du Centre National de Recherches Agronomiques (CNRA) de man, Cote d'Ivoire. Après le séchage solaire et le décorticage des graines, les amandes (Figure a) ont été séché à l'étuve à 105°C, puis broyé (Figure b) pour être conservé dans des bouteilles étanches pour leur utilisation ultérieure. Certains échantillons ont été réalisés à l'issus de la fermentation alcoolique d'amande fraîche en milieu anaérobie. Cette méthode est une biotechnologie qui permet de détoxifier les aliments par hydrolyse acide des glycosides [9].

2-2. Méthodes

L'élaboration du procédé de détoxification des extraites d'amandes d'hévéa a été effectuée en évaluant la teneur de cyanures libres et cyanures totaux des différents échantillons, à l'issus des opérations suivantes : séchage de l'amande, fermentation de l'amande fraîche, la macération du broyat à froid et à chaud (50°C ; 70°C et 90°C), et la torréfaction du broyat par cuisson à la vapeur. L'acide cyanhydrique a été libéré par hydrolyse des cyanoglycosides puis dosé par spectrophotométrie en suivant la méthode de **Rezaul Haque M et al en 2002**, et aussi par la méthode argentimétrique de **Liebig Denigès (1971)**, après entraînement à la vapeur du gaz cyanure d'hydrogène. Le dispositif pour entraîner l'acide cyanhydrique libéré était relié d'un côté à un générateur de vapeur d'eau et de l'autre coté à un réfrigérant permettant de recueillir l'acide cyanhydrique.

2-2-1. Macération du broyat

L'étape de macération du pour libérer l'acide cyanhydrique de son état de combinaison s'est décliné en deux. A cet effet, certains échantillons ont été obtenue directement sur le broyat et d'autre sur le broyat torréfié. Le ratio (2g/30ml) pour la macération, a été retenu à l'issu d'un plan d'expérimentation, lors de l'optimisation de l'hydrolyse des glycosides cyanogéniques.

2-2-2. Torréfaction du broyat

La torréfaction a été réalisée par cuisson à la vapeur d'eau en suivant le procédé de fabrication artisanal de l'*attiéké*. Pendant la phase de cuisson à la vapeur, le ratio de (1g/25mL) a été retenu à l'issue d'une série d'expérimentation. A cet effet, le temps maximal de cuisson se situait autour de 1h. Ensuite le broyat cuit à la vapeur a été soumis à la macération dans les mêmes conditions que précédemment.

2-2-3. Fermentation de l'amande fraîche

Dans le souci d'éliminer tous les cyanures libres lors du prétraitement de l'amande. Il nous a paru utile d'intervenir en amont sur l'amande entière. A cet effet, la fermentation de l'amande entière, ratio (1g/5ml) a été réalisée en milieu anaérobie. L'acidité du surnageant des échantillons a été déterminée au moyen de PH-mètre (HANNA : « HI 8284 »). Et la quantification de l'HCN libéré par hydrolyse a été faite par dosage volumétrie selon la méthode de Leibig-Dénigès sus évoquée.

2-2-4. Dosage des cyanures libres

Quant à la détermination de la teneur des cyanures libres des différentes échantillons, certains ont été obtenues par dosage spectrophotométrie en suivant la méthode décrite par Rezaul Haque M et al en 2002.

2-2-5. Dosage des cyanures totaux

Les cyanures totaux de l'amande d'hévéa ont été déterminés selon celle de la norme NT ISO 2164-1975 relative au dosage des hétérosides cyanogènes dans les légumineuses. Cette étape basée sur l'hydrolyse acide des glycosides cyanogéniques permet de doser tout le cyanure contenu dans l'amande (Emmanuel PUSKARCZYK ;2006). Le dosage des cyanures totaux, nous a permis d'apprécier chaque étape opératoire, grâce aux rendements d'HCN libéré.

2-2-6. Elaboration du procédé de détoxification

A l'issues des différentes étapes opératoires, sur la base des rendements de détoxification fournis, le cumule de toutes ces opérations a été réalisé. Après la quantification de la teneur d'HCN libéré, par succession d'opération, la teneur résiduelle d'HCN dans les échantillons présentait un résultat satisfaisant. Cela s'est soldé par l'organigramme ci-dessous, qui donne de façon détaillée les grandes actions à mener pour détoxifier les extraits d'amandes amères dans un contexte alimentaire.

3. Résultats et discussion

3-1. Macération du broyat

La macération, réalisée sur les broyats a fait l'objet d'un suivie sur une durée de 8h. Elle a été effectuée dans de l'eau distillée à température ambiante. Les surnageants ont été recueillis puis dosés après hydrodistillation. L'acide cyanhydrique libéré a été quantifié par dosage argentimétrie selon la méthode

de Liebig Dénigès, (1971). Les échantillons ont été dosés par une solution de nitrate d'argent (0,02N), en présence de solution d'ammoniac (10%) et une solution de KI (5%) jusqu'à trouble opalescente persistante. A ce niveau l'acide cyanhydrique entraîné a été piégé d'abord par une solution de soude (0,02N). La Teneur de HCN pour 100 g de matière sèche est déterminée par l'expression :

$$T [\%] = \frac{V \times 100 \times 0,0054}{m}$$

V (volume de nitrate d'argent versé)

m (masse pesée de broyat)

Cette série d'opérations présentait une durée maximale de 4h de macération pour optimiser l'hydrolyse biochimique des glycosides cyanogènes, afin de libérer l'acide cyanhydrique.

Après 4h de macération, la teneur d'acide cyanhydrique pouvant être débarrassé est optimale ([diagramme 1 et 2](#)), et se situait à $(442,2 \pm 0,7 \text{ mg/kg})$ pour le broyat non cuit et la teneur résiduelle de HCN dans le filtrat était de $(178,9 \pm 2,3 \text{ mg/kg})$. Pour le broyat cuit à la vapeur (1h de cuisson), cette teneur d'HCN était de $(469,7 \pm 1,9 \text{ mg/kg})$, avec une teneur résiduelle dans le filtrat égale à $151,9 \pm 1,5 \text{ mg/kg}$. La cuisson à la vapeur à 90° C , s'est présenté comme une étape à ne pas négliger dans le procédé de libération de HCN des glycosides lors de la macération.

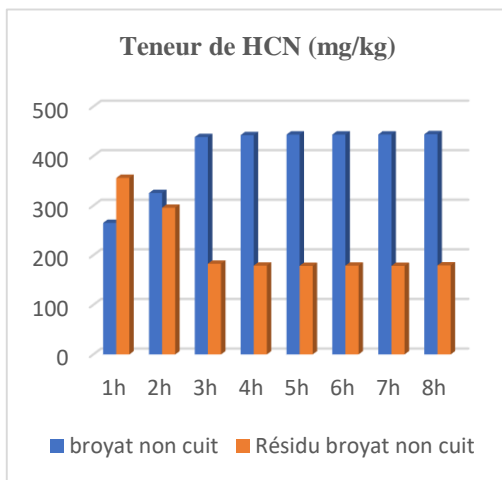
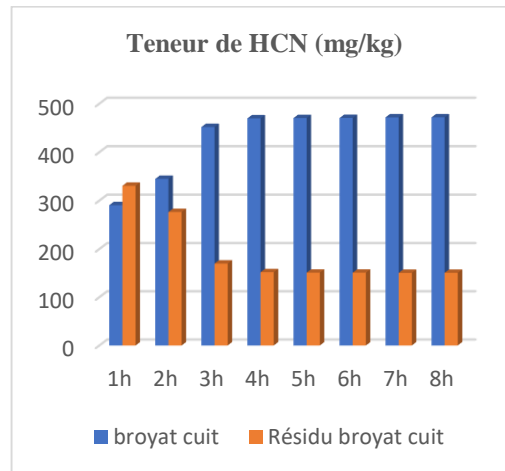


Diagramme 1



Digramme 2

Les travaux réalisés ont permis d'élaborer le procédé de détoxification des extraits d'amandes d'hévéa à partir de l'organigramme suivant :

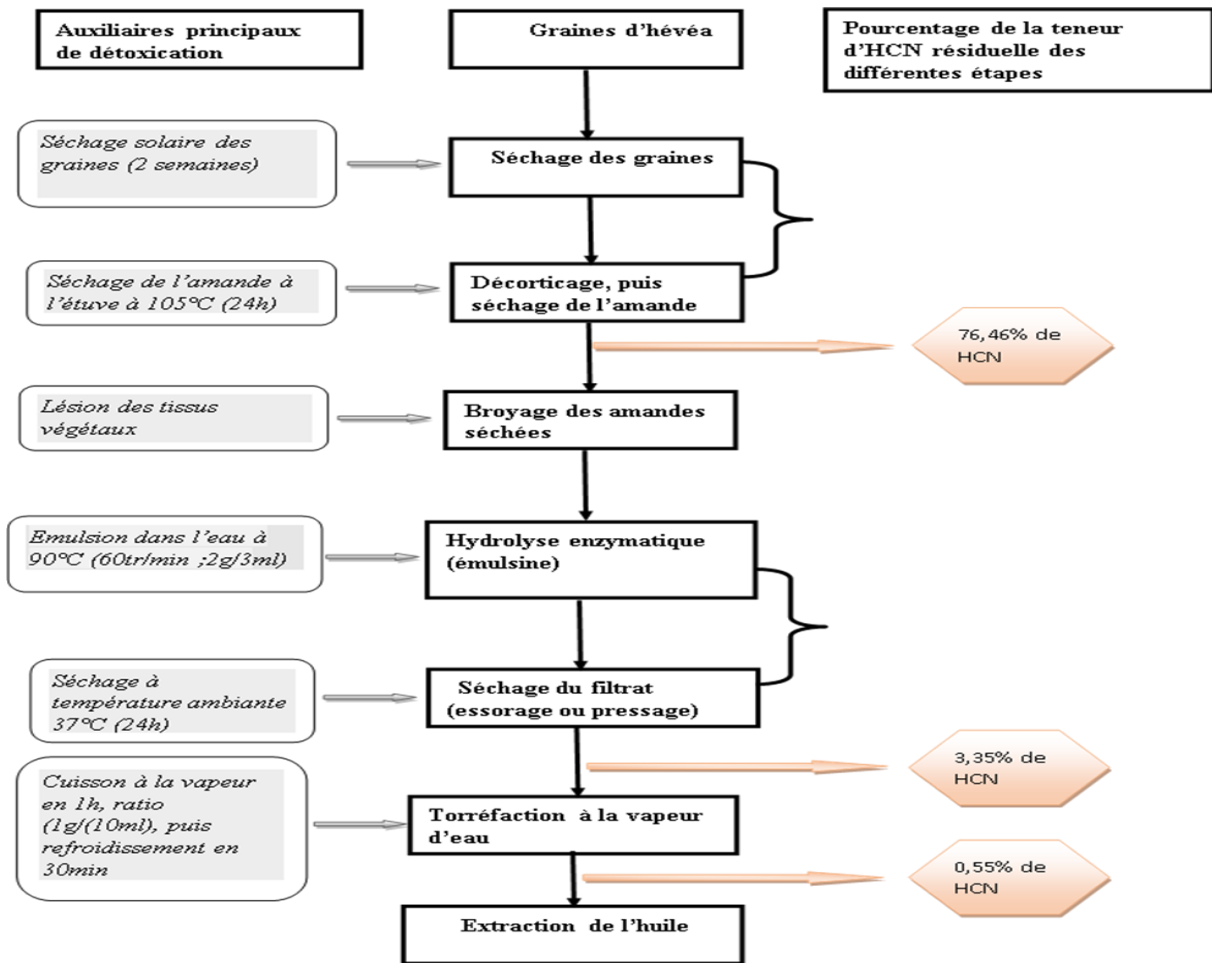


Figure g : Organigramme pour la détoxification des extraits d'amandes amères

Conclusion

La détoxification des extraits d'amande amère à des fins alimentaires est possible. Elle peut se dérouler en suivant les étapes opératoires sus-évoquées qui tiennent compte des facteurs tels que : la température, la granulométrie du broyat, le ratio masse broyat/ volume d'eau. Car l'acide cyanhydrique qui se trouve bloqué à l'état de combinaison est libéré dans ces conditions qui optimise l'hydrolyse des cyanoglycosides. Dans notre étude, l'extrait que nous visons est l'huile d'hévéa. Ce procédé de détoxification a permis de réduire la teneur résiduelle d'HCN du broyat jusqu'à une teneur 1,8mg/kg grâce à l'optimisation de l'hydrolyse de ces hétérosides selon le modèle Y90, permettant ainsi de produire une huile d'hévéa consommable.

En perspective, nous voulons valoriser les sous-produits agricoles, notamment les graines d'hévéa, en créant une valeur ajoutée à ce matériel végétal, cela permettrait d'améliorer le revenu de nos planteurs et de protéger l'environnement (la faune et la flore) contre cette toxine d'acide cyanhydrique.

Références bibliographiques

- [1] **Atchibri, L.O., Atcho, O., Kouakou, B., Keli, J., 2008.** La graine d'hévéa appauvrie en acide cyanhydrique par la méthode de triple séchage offre un tourteau propre à la consommation de la poule pondeuse. *Revue Africaine de santé et de productions Animales*, **6** (3-4), 195-198.
- [2] **FAO/WHO** (Food and Agricultural Organization/World Health Organization), 2012. Safety evaluation of certain food additives and contaminants prepared by the seventy-fourth meeting of the joint FAO/WHO expert committee on food additives. *WHO food Additives Series*, **65**, 1-833.
- [3] **Friedman M.**, Potato glycoalkaloids and metabolites: Roles in the plant and in the diet, *J. Agric. Food Chem.*, 2006, **54**(23), p. 8655. [14]
- [4] **Barel G.**, Ginzberg I., Potato skin proteome is enriched with plant defence components, *J. Exp. Bot.*, 2008, **59**(12), p. 3347.
- [5] **Li, H., Jiang, D., Liu, W., Yang, Y., Zhang, Y., Jin, C., & Sun, S. (2020).** Comparison of fermentation behaviors and properties of raspberry wines by spontaneous and controlled alcoholic fermentations. *Food Research International*, **128**, Article 108801.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108801>.
- [6] **Gningini Alain Kone.** Effet de l'incorporation de tourteaux de graines d'hévéa (*Hevea brasiliensis*) ou de tourteaux d'anacarde (*Anacardium occidentale*) sur les performances de pintades (*Numida meleagris*) en Côte d'Ivoire. *Science des productions animales*. Agrocampus Ouest, 2019. Français. NNT : 2019NSARC143ff. fftel-02787338f
- [7] **Didier Snoecka,* , Régis Lacotea, Jules Kéli b, Amadou Doumbiac, Thierry Chapuset a, Patrick [8]Jagoret d, Éric Gohet .** Association of hevea with other tree crops can be more profitable than hevea monocrop during first 12 years 013. CIRAD, TA B34/02 – Avenue Agropolis – 34398, Montpellier Cedex 5, France b **CNRA** (Centre National de la Recherche Agronomique), Km17, Route de Dabou – 01 BP 1740 Abidjan 01, Côte d'Ivoire.
- [9] **Amani, G., Nindjin, C., N'zué, B., Tschannen, A., & Aka, D. (2007).** Potentialités à la transformation du manioc (*Manihot esculenta crantz*) en Afrique de l'Ouest. *Actes du 1er Atelier International*, p 358
- [10] **Ozun J, et al.** Un cas d'intoxication pédiatrique en Martinique par ingestion de feuilles crues de manioc. *Toxicologie Analytique & Clinique* (2014), <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxac.2014.04.006>.
- [11] **CEAEQ (CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC).** Détermination des cyanures : méthode colorimétrique automatisée avec l'acide isonicotinique et l'acide barbiturique – distillation manuelle, MA. 300 – CN 1.2, Rév. 4, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques du Québec, 2016, 26 p

[12] **SciCom** (COMITE SCIENTIFIQUE de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire), 2016. Proposition d'une limite d'action pour l'acide cyanhydrique dans les amandes d'abricot amères et douces. AVIS RAPIDE 11-2016. P5-25

[13] **Leibig-Denige, 1971**. Dosage de l'acide cyanhydrique. Meled. Landbouw Hogeschool : Wageningen 71, 13p.

[14] **Augustin Koffi YAO1 , Djary Michel KOFFI2*, Sika Hortense BLEI2 , Zaouli Bi IRIÉ1 et Sébastien Lamine NIAMKE, 2015**. Propriétés biochimiques et organoleptiques de trois mets traditionnels ivoiriens (attiéké, placali, attoukpou) à base de granulés de manioc natifs. Available online at <http://ajol.info/index.php/ijbcs> Int. J. Biol. Chem. Sci. 9(3): 1341-1353, June 2015 ISSN 1997-342X (Online), ISSN 1991-8631 (Print).

[15] **Poulton JE, 1990**.Cyanogenesis in plants. Plant physiology ; 94 :401-405.

[16] **Norme internationale ISO 2164**. Pulses-Determination of glycosidic hydrocyanic acid. Première édition-1975-09-15.

[17] **Kone G, A ; Kouakou D, V ; A-k E, M ; Kouame K, B ; Yeboue F ; Kouba D'anacadre Et De Pourghère Chez Les Porcs Durant La Gestation Et La Lactation. European Scientific Journal** Octobre 2016 édition vol.12.No.30 ISSN : 1857-7881 (Print) e-ISSN 1857-7431.

[18] **Bolarinwa I.F., Orfila C., Morgan M.R. 2014**. Amygdalin content of seeds, kernels and food products commercially available in the UK. *Food Chemistry*, 152, 133–139.

Influence des zones agro-écologiques sur la capacité antioxydante de variétés d'oignon bulbe (*Allium cepa* L.) cultivées au Burkina Faso

Virginie Marie DAKÉNE¹, Abdoulaye SÉRÉMÉ^{2,*}, Hagrétou SAWADOGO - LINGANI³, Moumouni KOALA⁴, Marius K. SOMDA⁵ et Alfred S. TRAORÉ⁵

¹Burkinabè, Ingénieur en Industries agro-Alimentaires, Laboratoire National de Santé Publique ; 09 BP 24 Ouagadougou 09 ; Burkina Faso ; Tel : 226 76627761

²Burkinabè, Doctorante, Département de Biochimie-Microbiologie ; Université Ouaga I Pr Joseph KI-ZERBO ; 03 BP 7021 Burkina Faso, e-mail : virginieyoubbar@yahoo.fr

³Burkinabè, Maître de recherches, Département Substances Naturelles/ IRSAT/ CNRST, 03 BP 7047 Ouagadougou 03 ; Burkina Faso ; Tel : 226 78285534 e-mail : asereme@yahoo.fr

⁴Burkinabè, Directrice de recherches, Département Technologie Alimentaire/ IRSAT/ CNRST, 03 BP 7047 Ouagadougou 03 ; Burkina Faso ; Tel : 226 76639890, e-mail : hagrétou@yahoo.fr

⁵Burkinabè, Maître de recherches, Département Médecine et Pharmacopée Traditionnelle/ IRSS/ CNRST, 03 BP 7047 Ouagadougou 03 ; Burkina Faso ; Tel : 226 76294617 e-mail : moumounikoala@yahoo.fr

⁵Burkinabè, Maître de conférence, Département de Biochimie-Microbiologie ; Université de Ouagadougou ; 03 BP 7021 Ouagadougou 03 ; Burkina Faso ; Tel : 226 78805242

⁵Burkinabè, Professeur titulaire, Département de Biochimie-Microbiologie ; Université de Ouagadougou ; 03 BP 7021 Ouagadougou 03 ; Burkina Faso ; Tel : 226 70401558

Correspondance : Virginie Marie DAKÉNE, Email : virginieyoubbar@yahoo.fr

Groupe thématique 3 (ReSAOA) : Sciences agroalimentaires

Résumé

L'oignon bulbe est une source importante d'antioxydants sur lesquels certains facteurs peuvent avoir un impact. L'objectif de cette étude était de déterminer la teneur en antioxydants et en polyphénols totaux de cinq (05) variétés d'oignon bulbe cultivées au Burkina Faso, et d'évaluer l'influence des facteurs agro-écologiques sur la teneur en antioxydants de la variété dont la culture est la plus dominante. Les échantillons ont été collectés dans les principales zones de culture de l'oignon. Les activités antioxydantes ont été évaluées en utilisant la méthode de Ferric Reducing Antioxydant Power. L'évaluation des teneurs en polyphénols totaux a été réalisée en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu. Les résultats ont révélé des activités antioxydantes de $0,125 \pm 0,001$ à $0,149 \pm 0,004$ mg d'ET/g, et des teneurs en polyphénols totaux de $0,172 \pm 0,011$ à $0,272 \pm 0,003$ mg d'EAG/g pour l'ensemble des variétés analysées.

Les résultats sur l'évaluation de l'effet des facteurs agroécologiques sur la teneur en antioxydants de la variété *Violet de Galmi* ont révélé des variations significatives de teneurs en antioxydants de $0,144 \pm$

0,002 à $0,155 \pm 0,001$ mg d'ET/g, et en polyphénols totaux de $0,208 \pm 0,014$ à $0,292 \pm 0,012$ mg d'EAG/g selon la région de culture.

Une détermination précise de l'influence des paramètres individuels des zones écologiques sur la teneur en antioxydants de l'oignon bulbe peut être envisagée.

Mots clés : Oignon bulbe, activités antioxydantes, polyphénols, zones agroécologiques

Abstract

Bulb onion is an important source of antioxidants on which certain factors can have an impact. The aim of this work was to determine the antioxidant and total polyphenol content of five (05) varieties of fresh bulb onion grown in Burkina Faso, and to evaluate the influence of agro-ecological factors on the antioxidant content of the variety whose culture is the most dominant. Samples were collected in the main onion growing areas. Antioxidant activities were evaluated using the method of Ferric Reducing Antioxidant Power. The evaluation of the total polyphenol contents was carried out using the Folin-Ciocalteu method. The results revealed antioxidant activities of 0.125 ± 0.001 to 0.149 ± 0.004 mg TE / g, and total polyphenol contents of 0.172 ± 0.011 to 0.272 ± 0.003 mg EAG / g for all varieties tested. Results on the assessment of the effect of ecology on the antioxidant content of *Galmi violet* variety revealed significant variations in antioxidant levels from 0.144 ± 0.002 to 0.155 ± 0.001 mg TE / g, and total polyphenols of 0.208 ± 0.014 to 0.292 ± 0.012 mg EAG / g depending on the culture region. A precise determination of the influence of individual parameters of ecological zones on the antioxidant content of the bulb onion can be considered.

Keywords: Bulb Onion, Antioxidant Activities, Polyphenols, Agroecological Zones

Introduction

La pollution atmosphérique, les rayonnements ionisants, les rayonnements radioactifs (UV, X ou γ) conséquences de l'industrialisation et de l'urbanisation, ainsi que le tabac et l'alcool, sont entre autres les principaux facteurs de risque responsables des maladies liées au stress oxydatif. Ces maladies posent un problème de santé publique de plus en plus grave (23 ; 36). En effet, les maladies liées au stress oxydatif sont les causes de plus en plus importantes d'incapacité et de décès prématuré tant dans les pays en développement comme le Burkina Faso que dans les pays développés. En 2001, elles étaient responsables d'environ 60 % des 56,5 millions de décès déclarés dans le monde, et 46 % de la charge mondiale de morbidité (23). La même source indique que ce taux de morbidité passera à 57 % en 2020, et que ces maladies liées au stress oxydatif seront responsables de près des 3/4 des décès dans le monde. Dans les pays en développement, les décès causés par ces maladies dominant dans les statistiques de la mortalité (24). L'une des principales causes de ces maladies est l'action des radicaux libres, molécules chimiques produites naturellement dans l'organisme lors des différentes réactions du métabolisme.

Les antioxydants sont des molécules chimiques qui permettent non seulement de lutter contre les radicaux libres, mais aussi de réparer les dommages qu'ils causent. Ils jouent donc un rôle prépondérant dans la prévention des maladies dues au stress oxydatif (14 ; 30 ; 33). Des antioxydants de synthèse existent mais sont très peu accessibles aux consommateurs du fait de leur coût. Par ailleurs, à forte dose, ces antioxydants de synthèse deviennent des agents pro-oxydants potentiellement dangereux pour la santé (13 ; 16 ; 17). Pincemail *et al.*, (26), ont souligné que toutes les études montrent qu'un taux élevé d'antioxydants obtenu grâce à une alimentation riche en fruits et légumes permet de réduire sans danger, le risque relatif de mortalité due au stress oxydatif. L'alimentation et la nutrition sont donc d'importants facteurs jouant un rôle déterminant dans la prévention des maladies liées au stress oxydatif (24). Plusieurs aliments sont utilisés comme sources naturelles d'antioxydants, mais leurs capacités antioxydantes ne sont généralement pas bien connues d'où la présente investigation sur l'oignon. L'oignon (*Allium cepa* L.) de par sa composition est une plante possédant de nombreuses propriétés nutritionnelles et antioxydantes. En effet, de nombreuses études lui attribuent des propriétés permettant de lutter contre certaines maladies liées au stress oxydatif telles que les cancers, les maladies cardiovasculaires, le diabète, les maladies liées au vieillissement (2 ; 5 ; 22 ; 34 ; 35). Le Burkina Faso est l'un des grands producteurs d'oignons de l'Afrique de l'Ouest où il occupe le 4^{ème} rang après le Nigeria, le Niger et le Sénégal (25). L'oignon bulbe occupe la première place parmi les spéculations maraîchères produites. C'est un produit de grande consommation aussi bien dans les centres urbains qu'en milieu rural. En 2012 la production était de 329 319t, et cette production ne cesse de croître (25). L'oignon bulbe produit au Burkina Faso est exporté vers les pays de la sous-région, notamment en Côte d'Ivoire, au Ghana, au Togo et au Bénin (1 ; 25). Son utilisation comme source naturelle d'antioxydants pourrait donc permettre aux populations et notamment celles vulnérables que sont les enfants, les femmes enceintes, les personnes âgées, de prévenir les maladies liées au stress oxydatif. Cependant, certains facteurs tels les techniques culturales, les conditions environnementales, ont un impact sur la biosynthèse des composés antioxydants dans les plantes (12 ; 15 ; 18 ; 27 ; 31).

L'objectif de la présente étude est de connaître la teneur en antioxydants et en polyphénols totaux de cinq (05) variétés d'oignon bulbe (*Violet de Galmi*, *Violet Damani*, *Préma*, *Safari* et une *variété locale*) cultivées au Burkina Faso, et d'évaluer l'influence des facteurs agro-écologiques sur la teneur en antioxydants de la variété la plus cultivée (*Violet de Galmi*).

1. Matériel et Méthodes

1.1 Échantillonnage

L'étude a porté sur les variétés : *Violet de Galmi*, *Violet Damani*, *Préma*, *Safari* et une *variété locale*. Des échantillons de chaque variété de bulbe d'oignon ont été collectés dans six (06) régions du Burkina Faso que sont : la Boucle du Mouhoun, le Centre, le Centre Ouest, l'Est, les Hauts Bassins et le Nord,

en vue des analyses de laboratoire. L'échantillonnage a été faite de manière aléatoire pour chaque variété. Les pratiques culturales dans les différentes régions étant identiques, deux (02) lots constitués chacun d'un sac de 50 kg de bulbes ont été collectés par variété. Les variétés collectées par région sont présentées dans le tableau I. Au total, vingt (20) lots de 05 variétés d'oignon ont été prélevés pour cette étude (tableau I). Les lots ont été conservés à la température ambiante, dans un endroit aéré, à l'abri du soleil.

Tableau I : Variétés collectées et nombre de lots par région

Région	Nombre de lots	Variétés collectées
Boucle du Mouhoun	02	<i>Violet de Galmi</i>
Centre	02	<i>Violet de Galmi</i>
Centre Ouest	06	<i>Violet de Galmi, Préma, Variété Locale</i>
Est	04	<i>Violet Damani, Safari</i>
Hauts Bassins	02	<i>Violet de Galmi</i>
Nord	04	<i>Violet de Galmi, Safari</i>

1.2. Méthodes d'analyses

Les analyses ont consisté dans un premier temps à la détermination des activités antioxydantes et des teneurs en polyphénols totaux sur des extraits frais de bulbes des variétés collectées, puis dans un second temps, à l'évaluation de l'effet des zones agro-écologiques sur la concentration en antioxydants et en polyphénols totaux de la variété *Violet de Galmi*.

1.2.1. Préparation des échantillons et extraction des antioxydants

Pour chaque variété, trois (3) bulbes de chaque lot, pris de manière aléatoire, ont été débarrassés de la pelure externe (écaille séchée) puis découpés en morceaux à l'aide d'un couteau en acier inoxydable et broyés à l'aide d'un mortier en porcelaine. Ensuite, 2 grammes du broyat de matière fraîche d'oignon ont été immédiatement pesés dans un bécher en verre et mélangés avec 3 ml de solvant constitué d'un mélange : acétone, eau, acide acétique (AEA) dans les proportions ; 70 : 29,5 : 0,5 (v/v). Après homogénéisation à l'agitateur vortex, l'ensemble a été mis à macération pendant 24 heures à froid (4 °C). Après filtration à l'aide de papier filtre Whatman n°1, le filtrat a été conservé 4 °C à l'abri de la lumière dans des flacons ambrés jusqu'à l'analyse ultérieure. Cette opération d'extraction a été répétée trois fois successivement afin de s'assurer de l'épuisement total de l'échantillon.

1.2.2. Évaluation de l'activité antioxydante des variétés collectées

La méthode FRAP (Ferric ion Reducing Antioxydant Power) (3) a été utilisée pour l'évaluation de l'activité antioxydante des échantillons collectés. Le principe consiste à évaluer l'efficacité d'un antioxydant par sa capacité à réduire le fer (passage de la forme ferrique, Fe³⁺ à la forme ferreux, Fe²⁺). L'oxydant utilisé à cet effet est alors un sel ferrique, le Fe (III) (TPTZ)₂Cl₃. (TPTZ = 2,4,6-tripyridyl-s-

triazine) qui, de l'incolore passe au bleu intense une fois réduit. L'absorbance de la solution est mesurée à 595 nm (28).

Le mode opératoire a été le suivant : un volume de 20 µl d'extrait a été introduit dans 30 µl d'eau distillée puis 200 µl de solution FRAP préparée en mélangeant 1ml de TPTZ, 10 ml d'une solution tampon d'acétate de sodium (pH = 3,6) et 1ml de solution de Fe (III), H₂O. Un blanc constitué uniquement de 250 µl du solvant d'extraction a également été préparé. L'ensemble a été incubé à 37 °C pendant 10 minutes après homogénéisation. L'absorbance a ensuite été lue à 595 nm au spectrophotomètre (MP96, SAFAS) pour chaque échantillon. Une courbe d'étalonnage a été établie en utilisant le trolox comme antioxydant de référence. Les résultats ont été déterminés à partir de l'équation ($Y = 28,67x + 0,066$; $R^2 = 0,999$) de la courbe d'étalonnage et ont été exprimés en mg d'Equivalent de Trolox (ET) par gramme de matière végétale fraîche. Une moyenne des teneurs par variété a été calculée.

1.2.3. Évaluation de la teneur en composés phénoliques des variétés collectées

L'évaluation de la teneur en composés phénoliques a été faite à l'aide de la méthode de Folin- Ciocalteu (R-FC) (32) dont le principe consiste à faire réagir sur l'échantillon (l'extrait) le réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois) et à mesurer l'absorbance à 765 nm.

Le mode opératoire a été le suivant : un volume de 60 µl d'extrait a été mélangé avec 60 µl du réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois. Le mélange a été laissé à la température ambiante pendant 8 mn pour permettre la réaction complète du réactif sur les composés oxydables ou sur les phénolates. Ensuite, 120 µl d'une solution aqueuse de carbonate de sodium (Na₂CO₃) à 7,5 % (p/v) y ont été ajoutés afin de neutraliser le réactif résiduel. Après 30 minutes d'incubation à 37 °C, l'absorbance des extraits a été mesurée à 765 nm au spectrophotomètre MP96, SAFAS (microplaques en quartz de 96 puits). Un blanc composé de 60 µl du R-FC et de 120 µl de solution de carbonate de sodium a été également constitué. Une courbe d'étalonnage a été établit en utilisant l'acide gallique comme référence. Les résultats ont été déterminés à l'aide de l'équation ($Y = 46,41x + 0,063$, $R^2 = 0,998$) de la courbe d'étalonnage. Ils ont été exprimés en mg d'Équivalent d'acide gallique (EAG) par gramme de matériel végétal fraîche. Toutes les mesures ont été réalisées en tripliquata.

1.2.4. Analyse statistique des résultats

L'analyse statistique des résultats a été réalisée à l'aide du logiciel Genstat version 14. La comparaison entre les variétés a également été effectuée par *le multivariate analysis* de Genstat version 14.

2. Résultats

2.1 Activités antioxydantes (AAO) des variétés d'oignon bulbe collectées dans les zones de production.

Les résultats de l'activité antioxydante des extraits des 05 variétés d'oignon bulbe collectées dans les régions de la Boucle du Mouhoun, du Centre, du Centre Ouest, de l'Est, des Hauts Bassins et du Nord, sont présentés dans le tableau II. On observe des différences significatives ($P < 0,05$) entre les activités antioxydantes (AAO) des différentes variétés de bulbes frais. Ces teneurs vont respectivement de $0,125 \pm 0,001$ à $0,149 \pm 0,004$ mg d'ET/g de matière fraîche. Les variétés ayant les teneurs les plus élevées en antioxydants sont la Variété Locale, le Violet de Galmi et le Violet Damani, avec respectivement des teneurs de $0,149 \pm 0,004$; $0,147 \pm 0,004$ et $0,139 \pm 0,000$ mg d'ET/g de matière fraîche. On note cependant que les teneurs sont sensiblement équivalentes pour les variétés Violet de Galmi ($0,147 \pm 0,004^c$) et Variété Locale ($0,149 \pm 0,004^c$). Le Préma et le Safari présentent des teneurs inférieures ($0,125 \pm 0,001$ et $0,132 \pm 0,002$ mg d'ET/g de matière fraîche).

Tableau II : Activité Antioxydante (AAO) des 05 variétés d'oignon bulbe collectées

Variétés	Activité Antioxydante (AAO) (mg d'ET/g MF)
Violet de Galmi	$0,147 \pm 0,004^c$
Variété locale	$0,149 \pm 0,004^c$
Violet Damani	$0,139 \pm 0,000^b$
Safari	$0,132 \pm 0,002^{ab}$
Préma	$0,125 \pm 0,001^a$

Tous les résultats de dosage sont exprimés sous forme, teneurs moyennes \pm écart-type. Les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes.

2.2 Teneurs en polyphénols totaux (TPP) des variétés d'oignon bulbe collectées dans les zones de production

Les résultats des teneurs en polyphénols totaux des extraits des 05 variétés d'oignon bulbe collectées dans les régions de la Boucle du Mouhoun, du Centre, du Centre Ouest, de l'Est, des Hauts Bassins et du Nord, sont présentés dans le tableau III. Les résultats montrent une variation significative ($P < 0,05$) d'une variété à l'autre. Les teneurs vont de $0,220 \pm 0,013$ à $0,272 \pm 0,003$ mg d'EAG/g de matière fraîche pour les cinq variétés. Les plus fortes teneurs sont obtenues avec les variétés Violet de Galmi, Préma et Violet Damani avec respectivement $0,272 \pm 0,003$; $0,270 \pm 0,014$ et $0,254 \pm 0,017$ mg d'EAG/g de matière fraîche. La variété Safari présente la plus faible teneur ($0,172 \pm 0,011$ mg d'EAG/g de matière fraîche). On note cependant une équivalence de teneurs entre le Violet de Galmi et le Préma.

Tableau III : Teneurs en polyphénols totaux (TPP) des 05 variétés d'oignon bulbe collectées

Variétés	Teneur en polyphénols totaux (TPP) (mg d'EAG/g MF)
Violet de Galmi	$0,272 \pm 0,003^c$
Variété locale	$0,220 \pm 0,013^b$
Violet Damani	$0,254 \pm 0,017^{bc}$
Safari	$0,172 \pm 0,011^a$
Préma	$0,270 \pm 0,014^c$

Tous les résultats de dosage sont exprimés sous forme, teneurs moyennes \pm écart-type. Les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes.

Aucune corrélation significative n'a été observée entre AAO et TPP des différentes variétés ($R^2 = 0,069$) (figure 1),

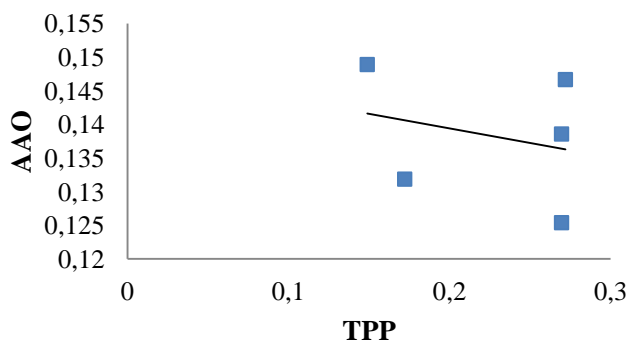


Figure 1 : Corrélation entre AAO et TPP de 05 variétés d'oignon bulbe collectées dans les zones de production

2.3. Effet des zones agro-écologiques du Burkina sur les teneurs en antioxydants et en polyphénols de la variété *Violet de Galmi*

Les résultats de l'effet des zones agro-écologiques du Burkina Faso sur les teneurs en antioxydants et en polyphénols totaux de la variété *Violet de Galmi* sont présentés dans le tableau IV. Deux lots de bulbes frais d'oignon ayant été collectés par région, les résultats présentés sont une moyenne des résultats obtenus sur les deux lots. Ces résultats montrent qu'il existe une variation significative ($P < 0,05$) entre les teneurs en antioxydants obtenues dans les différentes zones d'une part, et entre les teneurs en polyphénols totaux d'autre part. Ces teneurs vont de $0,144 \pm 0,002$ à $0,155 \pm 0,001$ mg d'ET/g de matière fraîche, et de $0,208 \pm 0,014$ à $0,292 \pm 0,012$ mg d'EAG/g de matière fraîche respectivement pour les AAO et les TPP (tableau IV).

Les teneurs les plus élevées en antioxydants sont obtenues avec les échantillons de la Boucle du Mouhoun ($0,155 \pm 0,001$ mg d'ET/g de matière Fraiche). Le Nord ($0,152 \pm 0,003$ mg d'ET/g MF), le Centre Ouest ($0,152 \pm 0,006$ mg d'ET/g MF) et les Hauts Bassins ($0,147 \pm 0,004$ mg d'ET/g MF) présentent des teneurs équivalentes. Les échantillons du Centre présentent les plus faibles teneurs ($0,144 \pm 0,002$ mg d'ET/g de matière fraîche).

Les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux sont obtenues avec la Région du Nord ($0,292 \pm 0,012$ mg d'EAG/g de matière fraîche), la région du Centre ($0,289$ mg d'EAG/g de matière fraîche), la Région du Centre Ouest ($0,280 \pm 0,002$ mg d'EAG/g de matière fraîche) et la Région de la Boucle du Mouhoun ($0,265 \pm$

0,006 mg d'EAG/g de matière). Ces 4 Régions présentent des teneurs sensiblement égales. Les Hauts Bassins se distinguent des 4 autres régions en présentant les plus faibles teneurs (0,208 ± 0,002 mg d'EAG/g de matière fraîche).

Tableau IV : Teneur en antioxydants et en polyphénols totaux du *violet de Galmi* en fonction des localités

Région	AAO (mg d'ET/g de matière fraîche)	TPP (mg d'EAG/g de matière fraîche)
Centre	0,144 ± 0,002 ^a	0,289 ± 0,000 ^b
Centre Ouest	0,152 ± 0,006 ^{ab}	0,280 ± 0,002 ^b
Nord	0,152 ± 0,003 ^{ab}	0,292 ± 0,012 ^b
Boucle du Mouhoun	0,155 ± 0,001 ^b	0,265 ± 0,006 ^b
Hauts Bassins	0,147 ± 0,004 ^{ab}	0,208 ± 0,014 ^a

Tous les résultats de dosage sont exprimés sous forme, teneurs moyennes ± écart-type. Les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes.

3. Discussion

3.1 Activités antioxydantes (AAO) et Teneurs en polyphénols totaux (TPP) des variétés d'oignon bulbe collectées dans les zones de production (régions de la Boucle du Mouhoun, du Centre, du Centre Ouest, de l'Est, des Hauts Bassins et du Nord).

Les résultats obtenus sont en accord avec ceux de la littérature quant à la variation des concentrations en antioxydants et en polyphénols totaux entre variétés d'une même espèce. Comme l'a souligné Causse (10), des études ont montré l'existence d'une grande gamme de variation entre variétés d'une même espèce de fruits et de légumes, pouvant aller du simple au double. En effet, Jeffery *et al.*, (18) ont montré, en comparant la teneur en β -carotène de 50 variétés de brocoli, que celle-ci pouvait être 6 fois plus importante d'une variété à l'autre. Kurilich *et al.*, (20), ont montré une variation 5 fois plus importante de la capacité antioxydante totale entre huit (08) variétés de la même plante.

Plusieurs facteurs seraient à l'origine de la variation des teneurs en antioxydants entre variétés d'une même espèce. En effet, comme l'ont souligné Causse *et al.* (10), Benbrook, (4), ces variations sont d'ordre physiologique, génétique, agronomique (techniques culturales, mode de production), ou environnemental (rayonnement, température, région de culture). A notre connaissance très peu de travaux ont été réalisés sur les antioxydants et les polyphénols des variétés d'oignon bulbes cultivés au Burkina Faso.

Les variations observées dans le cas des variétés d'oignon bulbe collectées pourraient s'expliquer par l'effet combiné de ces facteurs. On pourrait ainsi penser que l'équivalence des teneurs observée entre la variété Violet de Galmi et la Variété Locale pour les antioxydants, et entre les variétés Violet de Galmi

et Préma pour les polyphénols, serait le fait de facteurs génétiques (intervenant dans la détermination de la teneur en ces composés), et de conditions de production (agronomiques et environnementales) identiques pour ces variétés.

$R^2 = 0,069$ indiquant que seulement 06,9% de la capacité anti-oxydante des extraits sont dues à la contribution des composés phénoliques. En d'autres termes l'extrait le plus riche en composés phénoliques n'est pas nécessairement celui qui a la plus forte activité antioxydante.

Ces résultats montrent clairement que les polyphénols ne sont pas les seuls composés responsables de l'activité antioxydante des extraits d'oignon bulbe. Des résultats similaires ont été précédemment rapportés par d'autres auteurs. En effet, Dabiré (11) ; Psarra *et al.*, (29), ont mis en évidence une faible corrélation entre pouvoir antioxydant et teneur en composés phénoliques en travaillant respectivement sur des extraits de *Tridax procumbens* et des échantillons de vin. Les caroténoïdes sont également des composés à très grande activité antioxydante contenus dans l'oignon. Koala *et al.* (19) ont montré qu'il existe une bonne corrélation entre les teneurs en caroténoïdes totaux et les activités antioxydantes de huit (08) variétés de patates douces à chair orange (PDCO). On pourrait donc penser que les caroténoïdes seraient les composés qui contribueraient pour une grande part, aux activités antioxydantes des variétés d'oignon bulbe collectées.

3.2. Effet des zones agro-écologiques du Burkina sur les teneurs en antioxydants et en polyphénols de la variété *Violet de Galmi*

Les résultats de l'effet des zones agro-écologiques du Burkina Faso sur les teneurs en antioxydants et en polyphénols totaux de la variété *Violet de Galmi*, montrent que les teneurs en ces composés varient en fonction des zones agro-écologiques, notamment entre le Centre, la Boucle du Mouhoun, et les 3 autres régions (Centre Ouest, Nord et Hauts Bassins) pour les antioxydants, et entre les Hauts Bassins et les 4 autres régions (Centre Ouest, Nord, Centre, Boucle du Mouhoun) pour les polyphénols. Cela montre que les zones ont une influence sur la concentration en ces composés de l'oignon bulbe cultivé au Burkina Faso. Des résultats similaires ont été observés par d'autres auteurs. En effet, comme l'a souligné Maugé (21), des différences importantes de teneurs en polyphénols et en caroténoïdes sont observées pour une même variété de fruit ou de légume cultivée dans des zones géographiques différentes. Cela a été confirmé par Koala *et al.* (19), qui ont montré une variation de 30 % des teneurs en polyphénols en fonction des zones agro-écologiques, en travaillant sur la patate douce à chair orange (PDCO). Une région est un écosystème, caractérisé par des facteurs environnementaux en interaction (rayonnement, température, nature du sol etc.). De sorte que, comme l'ont souligné Dragovic-Uzelac *et al.*, (15) ; en l'absence de caractérisation climatique des régions, il est difficile d'attribuer ces variations à tel ou tel facteur de l'environnement aérien ou édaphique. La nature des sols dans les zones concernées est pratiquement identique car le type de sols dominants dans ces zones sont les sols ferrugineux, mais les caractéristiques morphologiques (structure, texture, profondeur, épaisseur, couleur, porosité...) et analytiques diffèrent d'une zone à l'autre (6 ; 7 ; 8 ; 9). Schreiner (31), a montré que chez certains

légumes, le rayonnement et la température jouent un rôle plus marqué que l'eau ou les apports de fertilisants. Les variations des teneurs en antioxydants et en polyphénols d'une zone à l'autre pour la même variété d'oignon bulbe pourraient donc s'expliquer par l'effet de ces facteurs, et des différences morphologiques et analytiques observées au niveau des sols. L'équivalence de teneurs observée entre les zones du Centre Ouest, du Nord et des Hauts Bassins, pour la teneur en antioxydants, d'une part, du Centre Ouest, du Nord, du Centre et de la boucle du Mouhoun pour la teneur en polyphénols, pourraient s'expliquer par l'existence dans ces zones de conditions climatiques et/ou édaphiques semblables.

Conclusion

Les résultats de ce travail montrent que les variétés d'oignon bulbe cultivées au Burkina Faso sont riches en antioxydants, et les concentrations varient d'une zone agro-écologique à l'autre. L'oignon bulbe pourrait donc être utilisé comme sources naturelles d'antioxydants, et pourrait ainsi contribuer à la prévention des maladies liées au stress oxydatifs qui, aujourd'hui constituent un réel problème de santé publique au Burkina Faso et à travers le monde. Cette richesse du bulbe d'oignon en micronutriments antioxydants fait de lui un légume qui pourrait contribuer à l'amélioration de l'état nutritionnel des groupes vulnérables que sont les enfants, les femmes enceintes et les personnes âgées.

Références

1. APEX (Agence pour la Promotion des EXportations du Burkina), 2014, Produits : l'oignon du Burkina. <http://www.apexb.bf/produit-3/>. Consulté le 18/01/18.
2. Augusti KT, 1990, Therapeutic and medical values of onions and garlic. Onions and Allied crops. CRC Press Inc. Vol3. Boca Raton, Floride, USA. 93-108.
3. Benzie I F F, Strain J J , 1996, The Ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. Anal. Biochem. 70-76.
4. Benbrook C M, 2005, Accroître la teneur en antioxydants des aliments grâce à l'agriculture et à la transformation alimentaire biologiques : Rapport sur l'état des connaissances scientifiques. The Organic Center for Education and promotion. 1-87.
5. Bianchini F, Vainio H, 2001, Allium vegetables and organosulfur compounds: do they help prevent cancer? Environ Health Perspect. 109 (9) : 893-902.
6. BUNASOLS (Bureau National des Sols), 2002, Etude morpho-pédologique des provinces du Houet et du Tuy. Echelle 1/5 000 000. Rapport technique n° 126. Burkina Faso. 1-28.
7. BUNASOLS, (Bureau National des Sols), 2003a, Etude morpho-pédologique de la province du Centre Ouest. Echelle 1/100 000. Rapport technique n° 124. Burkina Faso. 1-30.
8. BUNASOLS, (Bureau National des Sols), 2003b, Etude morpho-pédologique des provinces de la Kossi et des Banwa. Echelle 1/100 000. Rapport technique n° 130. Burkina Faso. 1-29.
9. BUNASOLS, (Bureau National des Sols), 2004, Etude morpho-pédologique des provinces des provinces du Yatenga, du Loroum et du Zoundoma. Echelle 1/100 000. Rapport technique n° 122. Burkina Faso. 1-32.
10. Causse M., 2007, Les sources de variabilité des qualités nutritionnelles des fruits et légumes. ; les sources de variation biologiques d'ordre physiologique et génétique. In : Les fruits et légumes dans l'alimentation, Enjeux et déterminants de la consommation. Rapport d'expertise collective, INRA. 176-185.
11. Dabiré M. C, 2011, Composition chimique et activités antioxydantes des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques du Burkina Faso. Thèse de Doctorat. Université de Ouagadougou. 122-123.
12. Daniel O, Meier M S, Schlatter J, Frischknecht P., 1999, Selected phenolic compounds in cultivated plants: ecologic functions, health implications, and modulation by pesticides Environ. Health Perspect. 107 Suppl 1 : 109-114.
13. Defraigne J O, Pincemail J., 2007, Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités. Rev Med. Liège. 4 - 10.
14. Diaz MN, Frei B, Vita JA, Keaney JF Jr., 1997, Antioxydants and atherosclerotic heart disease. New England journal of medicine. 408-416.

15. Dragovic-Uzelac V, Levaj B., Murky V, Bursac D, Boras M (2007). The content of polyphenols and carotenoids in three apricot cultivars depending on stage of maturity and geographical region. *Food Chemistry*. 102 (3) : 966–975.
16. Edeas M, 2010, Anti-oxydants, controverses et perspectives : comment expliquer l'échec des études cliniques utilisant des anti-oxydants. *Médecine & Nutrition*. n° 1. 19-29.
17. Favier A, 2003, Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*. 108-115.
18. Jeffery E H, Brown A F, Kurilich A C, Keck A S, Matusheski N, Klein B P, Juvik J A., 2003, Variation in content of bioactive components in broccoli. *Journal of food composition and analysis*. 16 (3): 323-330.
19. Koala M., Hema A, Somé K, Palé E, Sérémé A, Belem J, Nacro M, 2013, Evaluation of Eight Orange Fleshed Sweetpotato (OFSP) Varieties for Their Total Antioxidant, Total Carotenoid and Polyphenolic Contents. *Journal of Natural Sciences Research*. Vol.3, n° 4. 67-72.
20. Kurilich A C, Jeffery E H, Juvik J A, Wallig M A, Klein B P., 2004, Antioxidant Capacity of Different Broccoli (*Brassica oleracea*) Genotypes Using the Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) Assay. *J Agric Food Chem*. 50 (18) : 5053-5057.
21. Mauget JC., 2007, Les sources de variabilité des qualités nutritionnelles des fruits et légumes. ; les sources de variations biologiques d'ordre agronomique et environnemental In : Les fruits et légumes dans l'alimentation, Enjeux et déterminants de la consommation, Rapport d'expertise collective. INRA. 188-195.
22. Mégroz N, Baumgartner A, 2000, L'oignon, bon au goût et à l'œil. *A la loupe* n°2. 1-4.
23. OMS (Organisation mondiale de la santé), 2003, Régime alimentaire, nutrition et prévention des maladies chroniques. Série de rapports techniques n° 916. 1-64.
24. OMS (Organisation mondiale de la santé), 2002, Réduire les risques et promouvoir une vie saine. Rapport sur la santé dans le monde. Genève Suisse.
25. PAFASP (Programme d'Appui aux Filières Agro Sylvo Pastorales), 2014, Oignon. <http://www.pafasp.org/oignon> Consulté le 28/01/18.
26. Pincemail J, Degrune F, Voussure S, 2007, Effet d'une alimentation riche en fruits et légumes sur les taux plasmatiques en antioxydants et des marqueurs des dommages oxydatifs. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. 66-75.
27. Premuzic Z, Garate A, Bonilla I., 2002, Production of lettuce under different fertilisation treatments, yield and quality. *Acta Horticulturae*. 65-72.
28. Prior R L, Xianli W, Karen S, 2005, Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *J. Agric. Food Chem*. 4290-4302.
29. Psarra E, Makris DP, Kallithraka S, Kefalas P, 2002, Evaluation of the antiradical and reducing properties of selected Greek white wines: correlation with polyphenolic composition. *J. Sci. food Agric*. 1014-1020.
30. Renaud SC, Guéguen R, Schenker J, d' Houtaud A, 1998, Alcohol and mortality in middle-age men from Eastern France. *Epidemiology*. 184-188.
31. Schreiner M, 2005, Vegetable crop management strategies to increase the quantity of phytochemicals. *European Journal of Nutrition*. 44 (2): 85-94.
32. Singleton V L, Rossi J A., 1965, Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic*. 144-158.
33. Willcox J K, Ash SL, Catignani G L., 2004, Antioxidants and prevention of chronic disease. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 44 (4): 275-95.
34. World Cancer Research Fund, 1997, Food, Nutrition and the Prevention of Cancer: A Global Perspective. American Institute for Cancer Research. Washington, DC.
35. You WC, Li JY., 2005, Etiology and prevention of gastric cancer: a population study in a high risk area of China. *Chin J Dig Dis*. 6 (4): 149-154.
36. Young I S, Wooside. J V., 2001, Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol*. 176–186.

Pratiques culturelles, conditions de stockage, pratiques culinaires et leurs influences sur la capacité antioxydante l'oignon bulbe (*Allium cepa L.*) cultivé au Burkina Faso

Virginie Marie DAKÉNE¹, Dr Abdoulaye SÉRÉMÉ^{2,*}, Dr Hagrétou SAWADOGO - LINGANI³, Dr Moumouni KOALA⁴, Dr Marius K. SOMDA⁵ et Pr Alfred S. TRAORÉ⁵

¹ *Burkinabè, Ingénieur en Industries agro-Alimentaires, Laboratoire National de Santé Publique ; 09 BP 24 Ouagadougou 09 ; Burkina Faso ; Tel : 226 76627761*

-Burkinabè, Doctorante, Département de Biochimie-Microbiologie ; Université Ouaga I Pr Joseph KI-ZERBO ; 03 BP 7021 Burkina Faso, e-mail : virginieyougbar@yahoo.fr

² *Burkinabè, Maître de recherches, Département Substances Naturelles/ IRSAT/ CNRST, 03 BP 7047 Ouagadougou 03 ; Burkina Faso ; Tel : 226 78285534 e-mail : asereme@yahoo.fr*

³ *Burkinabè, Directrice de recherches, Département Technologie Alimentaire/ IRSAT/ CNRST, 03 BP 7047 Ouagadougou 03 ; Burkina Faso ; Tel : 226 76639890, e-mail : hagrétou@yahoo.fr*

⁴ *Burkinabè, Maître de recherches, Département Médecine et Pharmacopée Traditionnelle/ IRSS/ CNRST, 03 BP 7047 Ouagadougou 03 ; Burkina Faso ; Tel : 226 76294617 e-mail : moumounikoala@yahoo.fr*

⁵ *Burkinabè, Maître de conférence, Département de Biochimie-Microbiologie ; Université de Ouagadougou ; 03 BP 7021 Ouagadougou 03 ; Burkina Faso ; Tel : 226 78805242*

⁵ *Burkinabè, Professeur titulaire, Département de Biochimie-Microbiologie ; Université de Ouagadougou ; 03 BP 7021 Ouagadougou 03 ; Burkina Faso ; Tel : 226 70401558*

Correspondance : Virginie Marie DAKÉNE, Email : virginieyougbar@yahoo.fr

Groupe thématique 3 (ReSAOA) : Sciences agroalimentaires

Résumé

Le bulbe d'oignon est un légume contenant des micronutriments aux propriétés antioxydantes. Cependant, certains facteurs peuvent avoir un impact sur la teneur de ces composés. La présente recherche évalue les effets de paramètres tels les pratiques culturelles, les conditions de stockage et les pratiques culinaires, sur la teneur en antioxydants du bulbe de certaines variétés cultivées au Burkina Faso. L'identification des facteurs a été réalisée au moyen d'enquêtes de terrain, et leurs effets sur la teneur en antioxydants ont été évalués et appréciés grâce à des données bibliographiques et d'essais de laboratoire spécifiques. Les résultats ont montré que 84,78% des agriculteurs utilisent des engrais chimiques et tous utilisent des pesticides chimiques sur les cultures d'oignons. Ils n'utilisent pas de locaux ou d'équipements adaptés au stockage. Concernant les plats, 57,61% des cuisiniers, épluchent, coupent et lavent le bulbe d'oignon avant toute cuisson. Le temps de cuisson est de 30 minutes à 3 heures à de hautes températures. Seuls 02,72% des cuisiniers broient les bulbes au pilon, avant de l'utiliser sur le barbecue, ou de le cuire lentement dans différentes sauces. Les résultats de la recherche montrent que ces pratiques culinaires contribuent à diminuer significativement l'apport final d'antioxydant pour l'organisme du consommateur. Une étude plus approfondie de l'impact des modes de cuisson sur la teneur en antioxydants et en polyphénols du bulbe est envisagée.

Mots clés : Cultures, Stockage, Pratiques culinaires, Oignon bulbe

Abstract

Red onion bulb is a vegetable containing micronutrients with antioxidant properties. However, certain factors can have an impact on the content of these compounds. The present research evaluate the effects of parameters such as cultural practices, storage conditions and culinary practices, on the antioxidants content of red onion bulb of some varieties grown in Burkina Faso. The identification of the factors was carried out through field surveys, and their effects on the antioxidants content were assessed and appreciated through especially specific related bibliographic and laboratory test data. The results showed that 84.78% of farmers use chemical fertilizers and all of them use chemical pesticides on onion crop. They don't use premises or equipment suitable for storage. About dishes, 57.61% of cooks, peel, cut and wash onion bulb before steam cooking, boiling water cooking or oil frying them at high temperature during 30 minutes to 3 hours. Some cooks use to braise onion bulb scales as ingredients for different dishes such as barbecue. Only 02,72% of cooks grind the onion bulbs with a pestle, before using the crushed as such on barbecue, or slow cooking it in different sauces. Research results show that these culinary practices contribute declining significantly the final intake of antioxidant for the consumer's body. A more in-depth study of the impact of cooking methods on the antioxidant and polyphenol content of the bulb is planned.

Keywords: Crops, Cultivation, Storage, Culinary practices, Onion

Introduction

L'oignon (*Allium cepa* L.), plante originaire d'Asie Centrale (Pitrat et Foury, 2003), est aujourd'hui cultivé dans toutes les régions du monde où il constitue un des ingrédients de base dans de nombreux plats (Mégroz et Baumgartner, 2000 ; CNUCED, 2013).

L'oignon est riche en oligo-éléments notamment en manganèse, sélénium, phosphore, zinc, en vitamines (B, C, E, β -carotène), en polyphénols, etc. (Ciquel, 2013). Certains de ces composés sont dotés de propriétés antioxydantes (Favier, 2003), ce qui confère à l'oignon des vertus thérapeutiques. En effet, de nombreuses études lui attribuent des propriétés permettant de lutter contre certaines maladies liées au stress oxydatif telles que les cancers, les maladies cardiovasculaires, le diabète, les maladies liées au vieillissement (Augusti, 1990 ; World Cancer Research Fund, 1997 ; Mégroz et Baumgartner, 2000 ; Bianchini et Vainio, 2001 ; You et Li, 2005). L'ensemble de ces maladies sont les causes de plus en plus importantes d'incapacité et de décès prématuré tant dans les pays en développement comme le Burkina Faso que dans les pays développés. En 2001, elles étaient responsables d'environ 60 % des 56,5 millions de décès déclarés dans le monde, et 46 % de la charge mondiale de morbidité. Ce taux de morbidité passera à 57 % en 2020, et ces maladies liées au stress oxydatif seront responsables de près des 3/4 des décès dans le monde (OMS, 2003).

Dans les pays en développement, les décès causés par ces maladies dominent dans les statistiques de la mortalité (OMS, 2002).

Le Burkina Faso n'est pas en reste de cette situation. Le profil épidémiologique du pays est marqué entre autres par l'augmentation progressive de la prévalence des maladies liées au stress oxydatif (MS, 2013). Bien qu'il n'existe pas de données d'enquêtes nationales, ces maladies constituent actuellement un réel problème de santé publique (DN, 2010).

L'une des principales causes de ces maladies est l'action des radicaux libres, molécules chimiques produites naturellement dans l'organisme lors des différentes réactions du métabolisme. Lorsqu'ils sont en excès dans l'organisme, ils sont responsables d'oxydation de molécules biologiques telles que les protéines, les lipides, les glucides et même l'ADN (Alliwell, 2001 ; Favier, 2003 ; Rolland 2004 ; De Moffart *et al.*, 2005).

Les antioxydants sont des molécules chimiques qui permettent à l'organisme de lutter contre les radicaux libres, et de réparer les dommages qu'ils causent (Diaz *et al.*, 1997 ; Renaud *et al.*, 1998 ; Willcox *et al.*, 2004). Ils jouent donc un rôle très important dans la prévention des maladies liées au stress oxydatif.

Des antioxydants de synthèse existent mais sont très peu accessibles du fait de leur coût. En outre, à forte dose, ils deviennent des agents pro-oxydants potentiellement dangereux pour la santé (Favier, 2003 ; Pelli et Lyly, 2003 ; Defraigne et Pincemail, 2007 ; Edeas, 2010). Pincemail *et al.*, (2007), ont par ailleurs souligné que toutes les études montrent qu'un taux élevé d'antioxydants dans l'organisme obtenu grâce à une alimentation riche en fruits et légumes, permet de réduire sans danger, le risque relatif de mortalité due au stress oxydatif.

Plusieurs aliments sont utilisés comme source d'antioxydants, mais ne couvrent pas le besoin. Il est nécessaire de rechercher d'autres sources plus abondantes et facilement accessibles, d'où la présente investigation sur l'oignon.

Le Burkina Faso est l'un des grands producteurs d'oignon d'Afrique de l'Ouest (4^{ème} rang après le Nigeria, le Niger et le Sénégal). Cette production est inférieure à la demande intérieure. C'est donc un produit de grande consommation (PAFASP, 2014). Son utilisation comme source naturelle d'antioxydants pourrait donc permettre aux populations vulnérables que sont les enfants, les femmes enceintes, les personnes âgées, de prévenir les maladies liées au stress oxydatif. Cependant, certains facteurs tels les techniques culturales, les conditions environnementales, pourraient avoir un impact sur la biosynthèse des composés antioxydants dans les plantes (Daniel *et al.*, 1999 ; Premuzic *et al.* 2002 ; Jeffery *et al.*, 2003 ; Schreiner, 2005 ; Dragovic-Uzelac *et al.*, 2007). L'objectif de ce travail est d'évaluer l'effet des pratiques culturales, des conditions de stockage et des pratiques culinaires, et sur la teneur en antioxydants de l'oignon bulbe cultivé au Burkina Faso.

2 Matériel et Méthodes

2.1. Zones d'étude

Les données sur les pratiques culturelles, les conditions de stockage et les pratiques culinaires ont été collectées grâce à des enquêtes de terrain réalisées dans neuf (09) régions du Burkina Faso à savoir les régions de l'Est, du Centre Est, de la Boucle du Mouhoun, des Cascades, des Hauts Bassins, du Centre, du Plateau Central, du Nord et du Centre Ouest (figure 1).

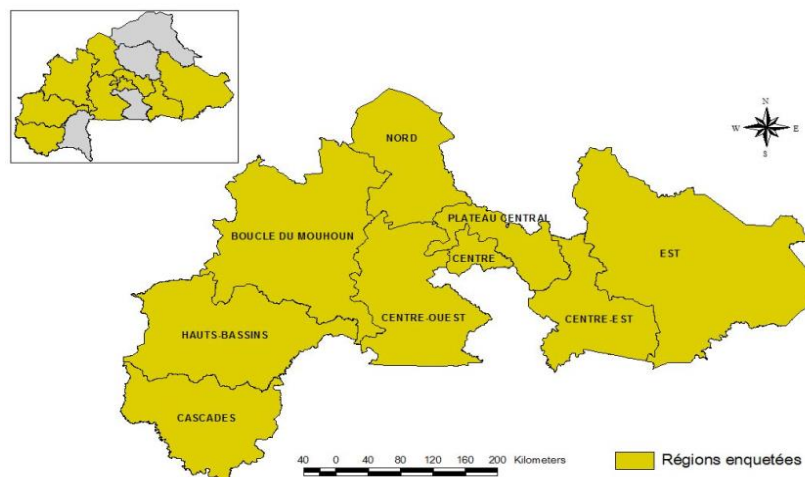


Figure 1 : Carte du Burkina Faso et localisation (en jaune) des zones d'étude

2.2 Méthodologie de collecte des données sur le terrain

2.2.1 Échantillonnage

Les neuf (09) régions retenues sont celles où l'activité de production de l'oignon bulbe est très prometteuse. Parmi ces régions figurent les trois plus grandes régions productrices de l'oignon à savoir : la Région de la Boucle du Mouhoun, la Région du Nord et la Région du Centre-Ouest. L'échantillonnage a été aléatoire et a concerné 30 producteurs (trices) et 20 ménages dans chaque localité.

2.2.2 Outils de collecte de données sur le terrain

La collecte des données sur le terrain a été réalisée à partir d'enquêtes par entretien auprès des producteurs et des consommateurs dans les neuf (09) régions concernées. La technique adoptée a été l'entretien semi-directif où l'enquêté est invité à répondre de façon exhaustive avec ses propres termes et son propre cadre de référence aux questions qui lui sont posées par l'enquêteur (Balandier, 1963 ; Cuvillier, 1964).

Une fiche d'enquête sous forme de questionnaire a été conçue puis administrée en langues locales (Mooré, Dioula, Karaboro, Goulmatchéma).

Les informations concernant les pratiques culinaires ont été recueillies uniquement auprès des femmes car elles sont celles qui s'occupent des questions culinaires au sein des ménages. Les données d'enquêtes ont été traitées, analysées, commentées en rapport avec les données de la littérature.

3. Résultats et Discussion

Au total, 276 producteurs et 184 ménages ont été enquêtés.

3.1. Pratiques culturelles et influence sur la teneur en antioxydants de l'oignon bulbe

Les données collectées sur les pratiques culturelles appliquées à l'oignon bulbe auprès de 276 personnes enquêtées sont présentées dans le tableau I. Ces pratiques concernent la fertilisation du sol et l'usage des produits phytosanitaires pour le traitement des plants.

Tableau I : Pratiques culturelles appliquées à l'oignon bulbe par les enquêtés (n = 276)

Opération	Nombre d'enquêtés la pratiquant	Pourcentage
Usage des fertilisants chimiques	234	84,78 %
Usage de la fumure organique	42	15,22 %
Usage de produits phytosanitaires	276	100 %

Les données montrent que la majorité des enquêtés (84,78 %) utilisent les engrais chimiques qui sont généralement du NPK et de l'urée dans la production de l'oignon bulbe, et seulement 15,22 % utilisent la fumure organique à cet effet. Tous les producteurs enquêtés (100 %) utilisent des produits phytosanitaires pour le traitement des cultures d'oignon.

L'utilisation des engrais chimiques et des produits phytosanitaires peut avoir un impact négatif sur la teneur en antioxydants de l'oignon bulbe cultivé. En effet, des travaux antérieurs ont montré que l'application d'engrais chimiques notamment d'importantes quantités d'azote permettent une augmentation du rendement au détriment du contenu en antioxydants des plantes (Weston et Barth, 1997 ; Babik et Elkner, 2002 ; Bourn et Prescott, 2002). Ce phénomène appelé « effet de dilution » a également été mis en évidence par Farrell (2003) et Davis *et al.*, (2004). Quant à l'effet des produits phytosanitaires, des études ont montré que, plus la plante est livrée à elle-même pour faire face aux agresseurs et aux maladies, plus elle synthétise des antioxydants pour se défendre (Mauget, 2007 ; Lairon, 2009 ; Chun-Sen *et al.*, 2013 ; Ehrhart, 2014). Ainsi, l'application de produits phytosanitaires pourrait empêcher les plantes d'être dans une situation de défense et donc de synthétiser des antioxydants.

Les modes de production biologique se caractérisent par une culture sans apport de fertilisants chimiques, ni de pesticides de synthèse. Ces modes de culture mettent les plants d'oignon dans une situation de production difficile, car l'accessibilité des fertilisants naturels et des bio-pesticides est limitée. L'adoption de tels modes de production pourrait donc permettre d'assurer aux bulbes de meilleurs teneurs en composés phénoliques et une grande capacité antioxydante. Ren *et al.*, (2001) ont en effet montré que la capacité antioxydante de l'oignon biologique était de 20 à 50 % supérieure à celle de l'oignon conventionnel. Ces données ont été confirmées par Benbrook (2005), qui a souligné que 85 % des cas étudiés ont montré que les pratiques culturales biologiques permettent d'augmenter de plus de 30 % la teneur en antioxydants des plantes par rapport à celles de plantes issues de l'agriculture conventionnelle. La même source affirme que, globalement, les sols riches en humus et en activité biologique, peuvent modifier positivement la concentration et la combinaison des antioxydants dans les fruits et légumes récoltés, comparativement aux sols qui sont régulièrement soumis à la fumigation et abondamment fertilisés, et qui ont une bioactivité généralement moins importante (Benbrook, 2005). On pourrait donc penser que la capacité des pratiques culturales biologiques à augmenter la teneur en antioxydant des fruits et légumes viendrait de l'utilisation de fertilisants et pesticides biologiques, et que les fertilisants organiques sont très riches en matière organique contrairement aux engrais chimiques.

3.2. Conditions de stockage et influence sur la teneur en antioxydants de l'oignon bulbe

Les moyens de stockage de l'oignon bulbe utilisés par les producteurs dans les régions couvertes par les enquêtes sont présentés dans le tableau II. Les données montrent que seulement 8,33 % possèdent un magasin suffisamment aéré et muni d'étagères pour l'entreposage et le stockage des bulbes (photo 1). Quelques-uns (15,22 %) disposent d'un local (hangar ou case en paille) (photo 2) pour le stockage de leur production, et 56,52 % des enquêtés utilisent leur maison d'habitation (photo 3) pour l'entreposage et le stockage de l'oignon bulbe produit. On remarque que 19,93% des enquêtés ne disposent d'aucun moyen pour le stockage des bulbes après la récolte.

Tableau II : Conditions de stockage de l'oignon bulbe chez les enquêtés (n = 276)

Moyen de stockage	Nombre d'enquêtés le possédant	Pourcentage
Magasin aéré et muni d'étagères	23	8,33%
Case ou hangar en paille	42	15,22 %
Maison d'habitation	156	56,52 %
Aucun moyen	55	19,93 %

Température de stockage : température ambiante, non contrôlée
Humidité relative (HR), teneur en oxygène et en gaz carbonique (CO₂) : non contrôlées



Photo1 : Magasin aéré et muni Photo 2 : Case en paille Photo 3 : Maison d’habitation d’étagères

Par ailleurs le stockage se fait à l’air ambiant et les enceintes souvent surchargées. La température, l’humidité relative, la teneur en oxygène et en gaz carbonique (CO₂) du local de stockage ne sont pas contrôlées.

Ces conditions d’entreposage et de stockage, si elles permettent de minimiser les pertes dues au pourrissement des bulbes, pourraient avoir un impact non négligeable sur la qualité nutritionnelle du produit notamment sa teneur en antioxydants. En effet, Agblor et Doug (2001) ont montré que pour préserver la qualité nutritionnelle de l’oignon bulbe durant le stockage, la température optimale devrait être de 0 °C et l’humidité relative comprise entre 65 et 70 %. L’entreposage pourrait également se faire à la température ambiante comme c’est le cas pour les producteurs enquêtés, mais à condition que celle-ci soit comprise entre 20 et 30 °C et que les bulbes soient convenablement séchés (PRODEX, 2012). L’oxygène de l’air devrait être la plus faible possible afin de limiter la respiration des bulbes comme l’ont montré Renard et Chervin (2007). Dans le cas de la présente étude, chez les producteurs enquêtés, aucun local de stockage n’est muni d’un dispositif de surveillance et de réglage de ces paramètres afin de s’assurer qu’ils sont convenables à la bonne conservation et à la préservation de la qualité nutritionnelle du bulbe. Il est donc possible qu’un tel environnement soit peu favorable au maintien du contenu en antioxydants des bulbes stockés.

3.3. Pratiques culinaires et influence sur la teneur en antioxydants de l’oignon bulbe

Afin de connaître les pratiques culinaires et leur influence sur la concentration en antioxydants de l’oignon bulbe, des informations ont été recueillies auprès des ménages notamment les femmes car, elles sont celles chargées des questions culinaires au sein de la famille. Cent quatre-vingt-quatre (184) ménages ont été enquêtés à cet effet. Ces informations concernent : les modes de préparation de l’oignon bulbe avant la consommation ou la cuisson, les modes de cuisson utilisés et le temps de cuisson.

3.3.1. Modes de préparation de l’oignon avant la consommation ou la cuisson

Les données sur les modes de préparation de l’oignon bulbe avant consommation ou cuisson sont présentées dans le tableau III.

Tableau III : Modes de préparation de l'oignon bulbe avant la consommation ou la cuisson dans les ménages enquêtés (n = 184)

Opération	Nombre de ménages enquêtés la pratiquant	Pourcentage
Épluchage et découpage	23	12,50 %
Épluchage, découpage, lavage	106	57,61 %
Épluchage, lavage, découpage	55	29,89 %

De ces données, il ressort que 57,61 % des enquêtés épluchent, découpent et lavent l'oignon bulbe avant de le consommer ou de le faire cuire, 29,89 % épluchent, mais lavent avant de le couper, et 12,50 % procèdent seulement à un épluchage et un découpage.

L'épluchage, le découpage et le lavage sont un ensemble de pratiques qui pourraient contribuer à une diminution du contenu en antioxydants des bulbes. En effet, divers travaux antérieurs ont montré que les micronutriments antioxydants sont généralement plus concentrés dans les parties épidermiques des fruits et légumes (Gorinstein *et al.*, 2002 ; Benbrook, 2005 ; Causse, 2007). L'épluchage bien qu'indispensable dans certains cas comme le bulbe d'oignon, pourrait donc contribuer à réduire ces composés dans les produits dérivés prêts à consommer. Les pertes lors du découpage s'expliqueraient par le fait qu'au cours de cette opération, il y a une altération de l'intégrité cellulaire. Cela entraînerait alors la mise en contact des composés solubles généralement accumulés au sein des vacuoles, et les enzymes de dégradation initialement présentes dans les parois cellulaires et le cytoplasme (Marquès *et al.*, 2003). Le lavage quant à lui, entraînerait la perte des composés hydrosolubles par diffusion dans l'eau, comme l'ont montré Arroqui *et al.*, (2001). Cependant, les pertes pourraient se situer à des degrés différents : 57,61 % des ménages enquêtés le pratiquent après découpage, ce qui pourrait occasionner davantage de pertes en composés hydrosolubles car la diffusion de ces derniers est facilitée et donc plus marquée ; 29,89 % des ménages enquêtés le pratiquent avant le découpage, ce qui occasionnerait moins de pertes. Ainsi, une meilleure pratique consistera à effectuer :

- i) un épluchage consistant simplement en l'élimination des écailles externes sèches ;
- ii) un lavage des bulbes épluchés avant découpage ;
- iii) un découpage tout en évitant la réduction de l'oignon bulbe en de petits morceaux, pourraient contribuer à réduire les pertes en composés antioxydants dues à la pratique de ces opérations indispensables.

3.3.2. Modes de cuisson utilisé et temps de cuisson de l'oignon bulbe dans les ménages enquêtés

Les différents modes de cuisson de l'oignon bulbe utilisés par les enquêtés sont présentés dans le tableau IV.

Tableau IV : Modes, temps et température de cuisson de l'oignon bulbe chez les enquêtés (n = 184)

Mode de cuisson de l'oignon bulbe chez les enquêtés	Nombre de ménages enquêtés le pratiquant	Pourcentage
Cuisson à l'huile puis à l'eau	184	100 %
Cuisson à l'eau	117	63,59 %
Cuisson à l'huile	49	26,63 %
Cuisson à la vapeur	20	10,87 %
Cuisson à la braise	13	07,07 %
Cuisson à l'étouffé	5	02,72 %
Temps de cuisson : entre 30 mn à 3h		
Température de cuisson : non contrôlée		

Les données montrent que la friture suivie d'une cuisson à l'eau est celle qui est la plus pratiquée par les ménages enquêtés (100 % des enquêtés). La cuisson à l'eau avec maintien de l'eau de cuisson est pratiquée par 63,59 %, et la cuisson à l'huile (friture) est pratiquée par 26,63 % des ménages enquêtés. La cuisson à la vapeur et la cuisson à la braise sont pratiquées respectivement par 10,87 % et 07,07 % des enquêtés. Quant à la cuisson à l'étouffé, elle n'est pratiquée que par 02,72 % des ménages enquêtés.

On note que le traitement thermique est le facteur commun à toutes ces pratiques. La chaleur entraîne la perte des composés antioxydants tels que les caroténoïdes et la vitamine C. Cette perte s'explique par la sensibilité de ces composés à la chaleur et à l'oxydation comme l'ont montré Renard et Chervin (2007). Le temps de cuisson est également un facteur qui pourrait contribuer à la baisse du contenu en antioxydants de l'oignon bulbe chez le consommateur enquêté. En effet, Renard et Chervin (2007) ont montré que l'importance des pertes lors de la cuisson dépend du couple temps-température : plus la température de cuisson est élevée et la durée prolongée, plus la destruction des composés thermosensibles est importante. Cette destruction peut atteindre 95 % de la teneur pour ce qui concerne la vitamine C. Dans le cas des consommateurs enquêtés, les pertes possibles en composés antioxydants pourraient s'expliquer par une inadaptation du couple temps-température : les temps de cuisson (30 mn à 3h) sont suffisamment long pour entraîner des pertes. En effet, Eduvigis *et al.* (2007) ont montré que pour un traitement thermique atteignant 100 °C, le temps de cuisson devrait être de 11 à 17 mn pour permettre de maintenir une bonne capacité antioxydante. Le couple temps-température doit donc être

pris en considération lors de la cuisson de l'oignon bulbe. Pour une température de cuisson élevée, le temps devrait être bref et vis versa.

Conclusion

Cette étude montre que :

- i) certaines pratiques culturales à savoir l'utilisation des engrais chimiques et des produits phytosanitaires ;
- ii) l'utilisation de conditions de stockage telles des locaux où il n'y a aucun contrôle de la température, de l'humidité relative, de la teneur en oxygène et en gaz carbonique, et d'un mode de stockage non approprié ;
- iii) les pratiques culinaires telles que l'épluchage, le découpage, le lavage, le mode de cuisson, le temps et la température de cuisson, sont un ensemble de facteurs qui pourraient contribuer à une diminution du contenu en antioxydants de l'oignon bulbe cultivé au Burkina Faso. Par conséquent, l'adoption d'un mode de production biologique, la conservation de l'oignon bulbe dans des conditions idéales de stockage (température optimale de 0 °C, humidité relative comprise entre 65 et 70 %, limitation de la respiration des bulbes par une réduction du degré d'oxygénation du local de stockage au plus faible possible et une élévation de la teneur en gaz carbonique) et l'adoption de techniques de préparation et de modes de cuisson appropriés (épluchage consistant simplement en l'élimination des écailles externes sèches, lavage des bulbes épluchés avant découpage, découpage tout en évitant la réduction de l'oignon bulbe en de petits morceaux, temps de cuisson de 11 à 17 mn pour une température 100°C, cuisson à l'eau avec maintien de l'eau de cuisson ou cuisson à la vapeur ou à l'étouffé), pourraient permettre d'une part d'accroître le contenu en antioxydants des bulbes, et d'autre part, de minimiser les pertes en composés antioxydants chez les consommateurs.

Références

- Agblor S, Doug W (2001). Oignons : manipulation et entreposage après la récolte. *Centre Canada-Saskatchewan de Recherche sur la Diversification de l'Irrigation*. 3p.
- Alliwell B (2001). Free Radicals and other reactive species in Disease. *Encyclopedia of life sciences*. 7 p.
- Arroqui C, Rumsey T R, Lopez A., Virseda P (2001). Effect of different soluble solids in the water on the ascorbic acid losses during water blanching of potato tissue. *Journal of Food Engineering*. 4 (2): 123-126.
- Augusti KT (1990). Therapeutic and medical values of onions and garlic. Onions and Allied crops. Vol3. *CRC Press Inc*. Boca Raton, Floride, USA. 93-108.
- Babik I, Elkner K (2002). The effect of nitrogen fertilization and irrigation on yield and quality of broccoli. *Acta Horticulturae*. 571 : 33-43.
- Balandier G (1963). Sociologie actuelle de l'Afrique Noire. 2e éd. Paris PUF. (France).510 p.
- Benbrook C M, (2005). Accroître la teneur en antioxydants des aliments grâce à l'agriculture et à la transformation alimentaire biologiques : Rapport sur l'état des connaissances scientifiques. *The Organic Center for Education and promotion*. 87p.
- Bianchini F, Vainio H (2001). Allium vegetables and organosulfur compounds: do they help prevent cancer? *Environ Health Perspect*. 109 (9): 893-902.

- Bourn D, Prescott J A. (2002). Comparison of the Nutritional Value, sensory qualities and food safety of organically and conventionally produced foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 42 (1) : 1-34.
- Causse M. (2007). Les sources de variabilité des qualités nutritionnelles des fruits et légumes. ; les sources de variation biologiques d'ordre physiologique et génétique. In : Les fruits et légumes dans l'alimentation, Enjeux et déterminants de la consommation. *Rapport d'expertise collective*, INRA. 176-185.
- Chun-Sen W , Gao Q-H , Keith Kjelgren R , Guo X-D, Wang M, (2013). Yields, Phenolic Profiles and Antioxidant Activities of Ziziphus jujube Mill. in Response to Fertilization Different Treatments. *Molecule* 18. 12029-12040.
- Ciqual (Centre d'Information sur la Qualité des Aliments) (2013). Table de composition nutritionnelle des aliments : Oignon. <http://www.afssa.fr/TableCIQUAL/index.htm> Consulté le 21/10/17
- CNUCED (Conférence des Nations Unies sur le Commerce et le Développement) (2013). - Produits AAACP : oignons. Consulté le 21/01/18. **Erreur ! Référence de lien hypertexte non valide.**
- Cuvillier A (1964). Introduction à la sociologie. 7e éd. Paris (France). *Armand Collin*.
- Davis D R, Epp M D, Riordan H D (2004). Changes in USDA Food Composition Data for 43 Garden Crops, 1950 to 1999. *Journal of the American College of Nutrition*. 23 (6): 1-2.
- Daniel O, Meier M S, Schlatter J, Frischknecht P (1999). Selected phenolic compounds in cultivated plants: ecologic functions, health implications, and modulation by pesticides Environ. *Health Perspect*. 107 Suppl 1 : 109-114.
- Defraigne J O, Pincemail J. (2007). Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités. *Rev Med*. Liège. 62 : 4- 10.
- De Moffarts B, Kirschvink N, Pincemail J, Lekeux P (2005). Impact physiologique et pathologique du stress oxydant chez le cheval. *Ann. Méd. Vét.* 149 : 1-9.
- DN (Direction de la Nutrition) (2010). Plan Stratégique 2011-2015. Burkina Faso. 62 p.
- Diaz MN, Frei B, Vita JA, Keaney JF Jr (1997). Antioxydants and atherosclerotic heart disease. *New England journal of medicine*. 337: 408-416.
- Dragovic-Uzelac V, Levaj B., Murky V, Bursac D, Boras M (2007). The content of polyphenols and carotenoids in three apricot cultivars depending on stage of maturity and geographical region. *Food Chemistry*. 102 (3) : 966–975.
- Edeas M (2010). Anti-oxydants, controverses et perspectives : comment expliquer l'échec des études cliniques utilisant des anti-oxydants. *Médecine & Nutrition*. n°1. 46: 19-29.
- Eduvigis R, Sanchez-Moreno C, Begona de Ancos M, Pilar C (2007). Characterisation of onion (Allium cepa L.) by-products as food ingredients with antioxidant and antibrowning properties. *Food Chemistry*. 108: 907–916.
- Ehrhart L (2014). ORAC, Antioxydant ; Comprendre les résultats. Happy berry infos. <http://www.happyberry.fr/post-1-valeur-orac-antioxydant-lire-resultats-fruits.html>. Consulté le 18/01/18.
- Farrell E (2003). Medical choices available for management of menopause. *Best Pract. Res. Clin Endocrinol. Metab.* 17 (1) : 1-16.
- Favier A (2003). Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*. 108-115.
- Gorinstein S, Martin-Belloso O, Lojek A, Ciz M, Soliva-Fortuny R, Park Y, Caspi A, Libman I, Trakhtenberg S (2002). Comparative content of some phytochemicals in Spanish apples, peaches and pears. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 82 (10): 1166–1170.
- Jeffery E H, Brown A F, Kurilich A C, Keck A S, Matusheski N, Klein B P, Juvik J A (2003). Variation in content of bioactive components in broccoli. *Journal of food composition and analysis*. 16 (3) : 323-330.
- Lairon D. (2009). La qualité des produits de l'agriculture biologique. *Innovations Agronomiques*. 4 : 281-287.
- Mauget JC (2007). Les sources de variabilité des qualités nutritionnelles des fruits et légumes. ; les sources de variations biologiques d'ordre agronomique et environnemental In : Les fruits et légumes dans l'alimentation, Enjeux et déterminants de la consommation, *Rapport d'expertise collective*. INRA. 188-195.
- Marquès L, Fleuriet A, Macheix JJ (2003). Brunissement enzymatique. Importance des polyphénols, des polyphénoloxydases et des peroxydases. In : Les polyphénols en agroalimentaire. P. Sarni-Manchado and V. Cheynier (eds). *Lavoisier*. Paris. 135–172.
- Mégroz N, Baumgartner A, (2000). L'oignon, bon au goût et à l'œil. *A la loupe* n°2. 4 p.
- MS (Ministère de la Santé) (2013). Plan Stratégique Intégré de Lutte contre les Maladies Non Transmissibles 2014-2018. Burkina Faso. 67 p.
- OMS (2003). Régime alimentaire, nutrition et prévention des maladies chroniques. Série de *rapports techniques* n° 916. 64 p.
- OMS (2002). Réduire les risques et promouvoir une vie saine. *Rapport sur la santé dans le monde*. Genève, Suisse.
- PAFASP (Programme d'Appui aux Filières Agro Sylvopastorales) (2014) : Oignon. <http://www.pafasp.org/oignon> Consulté le 18/01/18
- Pelli K, Lyly M (2003). Les antioxydants dans l'alimentation. *Consommateurs* n° 3. INRA. France. 17 p.
- Pincemail J, Degruene F, Voussure S (2007). Effet d'une alimentation riche en fruits et légumes sur les taux plasmatiques en antioxydants et des marqueurs des dommages oxydatifs. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. 21 : 66-75.

- Pitrat M, Foury C, (2003). Histoires de légumes : des origines à l'orée du XXI^e siècle. INRA, Paris. France. 410 : 111.
- Premuzic Z, Garate A, Bonilla I (2002). Production of lettuce under different fertilisation treatments, yield and quality. *Acta Horticulturae*. 571 : 65-72.
- PRODEX (Projet de Développement des Exportations et des marchés agro-sylvo pastoraux) (2012). Guide de Bonnes Pratiques de Production, Stockage et Conservation de l'oignon. 1^{ère} ed. République du Niger. 13p.
- Ren H, Endo H, Hayashi T (2001). Antioxydative and antimutagenic activities and polyphenol content of pesticide-free and organically cultivated green vegetables using water-soluble chitosan as a soil modifier and leaf surface spray. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 81 (15) : 1426-1432.
- Renard C, Chervin C (2007). Les sources de variabilité des qualités nutritionnelles des fruits et légumes : Variations dues à la transformation et la conservation. In : Les fruits et légumes dans l'alimentation, Enjeux et déterminants de la consommation. *Rapport d'expertise collective*. INRA. 199-215.
- Renaud SC, Guéguen R, Schenker J, d' Houtaud A (1998). Alcohol and mortality in middle-age men from Eastern France. *Epidemiology*. 9 : 184-188.
- Rolland Y. , (2004). Antioxydants naturels végétaux. *OCL*. Vol 11 n° 6. 419-424.
- Schreiner M (2005). Vegetable crop management strategies to increase the quantity of phytochemicals. *European Journal of Nutrition*. 44 (2): 85-94.
- Weston L, Barth M (1997). Preharvest factors affecting postharvest quality of vegetables. *HortScience*. 32 (5-7) : 812-815.
- Willcox J K, Ash SL, Catignani G L. (2004). Antioxidants and prevention of chronic disease. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 44 (4) : 275-95.
- World Cancer Research Fund (1997). Food, Nutrition and the Prevention of Cancer: A Global Perspective. *American Institute for Cancer Research*. Washington, DC. USA.
- You WC, Li JY (2005). Etiology and prevention of gastric cancer: a population study in a high risk area of China. *Chin J Dig Dis*. 6 (4) : 149-154.
- M. Pitrat and C. Foury, Stories of vegetables: Origins at the dawn of the 21st century vol. 410. Paris, France: INRA, 2003.
- Y. Rolland, "Plants natural antioxidants OCL," vol. 11, pp. 419-424, 2004.
- I. Babik and K. Elkner, "The effect of nitrogen fertilization and irrigation on yield and quality of broccoli," *Acta Horticulturae*, vol. 571, pp. 33-43, 2002. Available at: <https://doi.org/10.17660/actahortic.2002.571.2>.
- D. Bourn and J. A. Prescott, "Comparison of the nutritional value, sensory qualities and food safety of organically and conventionally produced foods," *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 42, pp. 1-34, 2002. Available at: <https://doi.org/10.1080/10408690290825439>
- C. Benbrook, Increasing the antioxidant content of foods through organic agriculture and food processing: State of the science report. Washington, DC: The Organic Center for Education and Promotion Inc, 2005.

Optimisation de l'hydrolyse biochimique des glycosides cyanogéniques, pour la détoxification des extraits des amandes amères, dans un contexte alimentaire : Cas de l'amande d'hévéa

Bamba Soualiho^{1*}, Adima AMISSA Augustin¹, Jean-Claude N'Guessan YAO¹, Kouwelton Patrick Franck Olivier Kone¹, Ouattara Leygnima Yaya¹.

.Laboratoire des Procédés Industriels et de Synthèses de l'Environnement et des Energies Nouvelles, Institut National Polytechnique Felix HOUPHOUËT BOIGNY, Yamoussoukro, Cote d'Ivoire

Soualihobamba81@gmail.com*

Groupe Thématique : G T 3 (ReSAOA) : Réseau des Sciences Agroalimentaires Ouest-Africain

Résumé :

L'amande d'hévéa est exploitable dans le domaine alimentaire, mais sa toxicité liée au sujet de l'acide cyanhydrique constitue une gangrène pour elle. Cette amande amère contient une teneur élevée en cyanure (>50mg/Kg), qui n'est pas conforme aux recommandations des normes alimentaires. Cependant ses extraits tels que l'huile et le tourteau sont riches en nutriments. Dans ce sous-produit agricole, cette toxine (cyanure) se trouve bloqué à l'état de combinaison hétérosidique dans les glycosides, et donc, doivent être libéré à l'état d'acide cyanhydrique par hydrolyse de ceux-ci. C'est dans cette optique que la randomisation de l'hydrolyse biochimiques des glycosides a été réalisée. Les résultats de l'étude de la cyanogénèse de l'amande réalisée à cet effet, promettent une détoxification optimale des extraits, favorisent donc la production d'huile d'hévéa propre à la consommation humaine, une matière grasse riche en acide gras essentiels, notamment les oméga-3 et les oméga- 6.

Dans la présente étude, le modèle Y90 élaboré promet une détoxification optimale des extraits d'amandes amères dans des conditions de basse température. Ce modèle Y90, retenue après étude comparative de trois modèles isothermes élaborés, présentait un rendement d'hydrolyse de 65% des glycosides cyanogènes, dont l'amygdaline, principal glycoside des amandes amères.

Mots clés : *Amandes amères ; détoxification ; glycosides cyanogéniques ; huile d'hévéa*

Optimization of the biochemical hydrolysis of cyanogenic glucosides, for the détoxification of bitter almond extracts, in a food context : the cas of rubber kernel

Abstract

The rubber tree kernel is exploitable for food purposes, but its toxicity due to hydrocyanic acid is gangrenous for it. This bitter kernel contains a high level of cyanide (>50mg/Kg), which does not comply with the recommendations of food standards. However, its extracts such as oil and cake are rich in nutrients. In this agricultural by-product, this toxin (cyanide) is locked in the heterosidic combination state in the glycosides, and therefore, must be released in the hydrocyanic acid state by hydrolysis of these. With this in mind, the randomisation of the biochemical hydrolysis of the glycosides was carried out. The results of the study of kernel cyanogenesis carried out for this purpose, promise an optimal detoxification of the extracts, thus favouring the production of rubber tree oil suitable for human consumption, a fatty substance rich in essential fatty acids, notably omega-3 and omega-6.

In the present study, the Y₉₀ model developed promises optimal detoxification of bitter almond extracts under low temperature conditions. This Y₉₀ model, selected after a comparative study of three isothermal models developed, presented a hydrolysis yield of 65% of cyanogenic glycosides, including amygdalin, the main glycoside of bitter almonds.

Keywords: Bitter almonds; detoxification; cyanogenic glycosides ; rubber tree oil.

1.Introduction

L'hévéa « *Hévéa brasiliensis* » est un genre de plantes dicotylédones de la famille des « Euphorbiacées », originaires d'Amazonie. Cette plante est cultivée en côte d'Ivoire dans le but d'extraire le latex pour en faire du caoutchouc naturel. Cependant, l'arbre produit chaque année d'importantes qualités de graines qui sont une source de matières grasses, et de protéines ^[1]. Selon les statistiques de la CNRA en 2012, la production ivoirienne en graines d'hévéa est estimée à 13.300 tonnes /an, et seulement 10% de cette production sont utilisés pour faire des plants et les 90% restant sont délaissées par nos cultivateurs, car ces graines ne bénéficient pas trop d'intérêt sur le plan commercial à leurs yeux.

Dans ce présent travail, l'arrière produit de ces graines qui a attiré notre attention est notamment l'huile, à cause des propriétés chimiques intéressantes qu'elle présente, car cette huile d'hévéa est siccativité et riche en acides gras essentiels ^[2, 3]. Cette siccativité serait liée à la forte insaturation de certains de ses acides gras, allant jusqu'à 6 doubles liaisons éthyléniques ^[4]. C'est d'ailleurs l'une des raisons qui font que l'huile d'hévéa est le plus souvent utilise comme adjuvant de résinification dans les revêtements anticorrosifs et des produits adhésifs.

Dans nos recherches les travaux de détoxification ont été réalisés à cet effet. Avant cette étape d'hydrolyse, les différentes opérations telles que, le séchage solaire de la graine puis de l'amande à l'étuve ont permis d'éliminer la teneur d'HCN libre. La macération du broyat et torréfaction du broyat sont autant d'opérations ayant contribué à débarrasser l'acide cyanhydrique de son état de combinaison. L'optimisation de l'hydrolyse des cyanoglycosides par plan d'expérimentation que nous avons effectués dans ce travail a été l'étape déterminante. Elle a été réalisée selon un plan factoriel à deux niveaux, dans des conditions isothermes (différentes températures constantes), et parmi trois modèles élaborés, le modèle Y90 (90°C) présentait le rendement d'hydrolyse le plus intéressant (65%). La majorité des enzymes endogènes hydrolysant de l'amande, selon ce modèle se trouvent activées, pour libérer l'acide cyanhydrique. Le présent procédé, élaboré dans ce travail, présente un rendement 99,45% de détoxification des extraits d'amandes.

2. Matériel et méthodes

2-1. Matériel

Les graines d'hévéa « *Hevea brasiliensis* » ont été collectés sur les sites du Centre National de Recherches Agronomiques (CNRA) de man, Cote d'Ivoire. Après le séchage solaire et le décortilage des graines, les amandes (Figure a) ont été séché à l'étuve à 105°C, puis broyé (Figure b) pour être conservé dans des bouteilles étanches pour leur utilisation ultérieure. Certains échantillons ont été réalisés à l'issus de la fermentation alcoolique d'amande fraîche en milieu anaérobie. Cette méthode est une biotechnologie qui permet de détoxifier les aliments par hydrolyse acide des glycosides [9].

2-2. Méthodes

L'élaboration du procédé de détoxification des extraits d'amandes d'hévéa a été effectuée en évaluant la teneur de cyanures libres et cyanures totaux des différents échantillons, à l'issus des opérations suivantes : séchage de l'amande, fermentation de l'amande fraîche, la macération du broyat à froid et à chaud (50°C ; 70°C et 90°C), et la torréfaction du broyat par cuisson à la vapeur. L'acide cyanhydrique a été libéré par hydrolyse des cyanoglycosides puis dosé par spectrophotométrie en suivant la méthode de **Rezaul Haque M et al en 2002**, et aussi par la méthode argentimétrique de **Liebig Denigès (1971)**, après entrainement à la vapeur du gaz cyanure d'hydrogène. Le dispositif pour entrainer l'acide cyanhydrique libéré était relié d'un côté à un générateur de vapeur d'eau et de l'autre coté à un réfrigérant permettant de recueillir l'acide cyanhydrique.

2-2-1. Macération du broyat

L'étape de macération du pour libérer l'acide cyanhydrique de son état de combinaison s'est décliné en deux. A cet effet, certains échantillons ont été obtenue directement sur le broyat et d'autre sur le broyat torréfié. Le ratio (2g/30ml) pour la macération, a été retenu à l'issu d'un plan d'expérimentation, lors de l'optimisation de l'hydrolyse des glycosides cyanogéniques.

2-2-2. Torréfaction du broyat

La torréfaction a été réalisé par cuisson à la vapeur d'eau en suivant le procédé de fabrication artisanal de *l'attiéké*. Pendant la phase de cuisson à la vapeur, le ratio de (1g/25mL) a été retenu à l'issue d'une série d'expérimentation. A cet effet, le temps maximal de cuisson se situait autour de 1h. Ensuite le broyat cuit à la vapeur a été soumis à la macération dans les mêmes conditions que précédemment.

2-2-3. Fermentation de l'amande fraîche

Dans le souci d'éliminer tous les cyanures libres lors du prétraitement de l'amande. Il nous a paru utile d'intervenir en amont sur l'amande entière. A cet effet, la fermentation de l'amande entière, ratio (1g/5ml) a été réalisée en milieu anaérobie. L'acidité du surnageant des échantillons a été déterminée au moyen de PH-mètre (HANNA : « HI 8284 »). Et la quantification de l'HCN libéré par hydrolyse a été faite par dosage volumétrie selon la méthode de Leibig-Dénigès sus évoquée.

2-2-4. Dosage des cyanures libres

Quant à la détermination de la teneur des cyanures libres des différentes échantillons, certains ont été obtenues par dosage spectrophotométrie en suivant la méthode décrite par Rezaul Haque M et al en 2002.

2-2-5. Dosage des cyanures totaux

Les cyanures totaux de l'amande d'hévéa ont été déterminés selon celle de la norme NT ISO 2164-1975 relative au dosage des hétérosides cyanogènes dans les légumineuses. Cette étape basée sur l'hydrolyse acide des glycosides cyanogéniques permet de doser tout le cyanure contenu dans l'amande [10]. Le dosage des cyanures totaux, nous a permis d'apprécier chaque étape opératoire, grâce aux rendements d'HCN libéré.

2-2-6. Elaboration du procédé de détoxification

A l'issus des différentes étapes opératoires, sur la base des rendements de détoxification fournis, le cumule de toutes ces opérations a été réalisé. Après la quantification de la teneur d'HCN libéré, par succession d'opération, la teneur résiduelle d'HCN dans les échantillons présentait un résultat satisfaisant. Cela s'est soldé par l'organigramme ci-dessous, qui donne de façon détaillée les grandes actions à mener pour détoxifier les extraits d'amandes amères dans un contexte alimentaire.

3. Résultats et discussion

3-1. Macération du broyat

La macération, réalisée sur les broyats a fait l'objet d'un suivi sur une durée de 8h. Elle a été effectuée dans de l'eau distillée à température ambiante. Les surnageants ont été recueillis puis dosés après hydrodistillation. L'acide cyanhydrique libéré a été quantifié par dosage argentimétrie selon la méthode de Liebig Dénigès, (1971). Les échantillons ont été dosés par une solution de nitrate d'argent (0,02N), en présence de solution d'ammoniac (10%) et une solution de KI (5%) jusqu'à trouble opalescente persistante. A ce niveau l'acide cyanhydrique entrainé a été piégé d'abord par une solution de soude (0,02N)

Cette série d'opérations présentait une durée maximale de 4h de macération pour optimiser l'hydrolyse biochimique des glycosides cyanogènes, afin de libérer l'acide cyanhydrique.

Après 4h de macération, la teneur d'acide cyanhydrique pouvant être débarrassé est optimale ([diagramme 1 et 2](#)), et se situait à $(442,2 \pm 0,7 \text{ mg/kg})$ pour le broyat non cuit et la teneur résiduelle de HCN dans le filtrat était de $(178,9 \pm 2,3 \text{ mg/kg})$. Pour le broyat cuit à la vapeur (1h de cuisson), cette teneur d'HCN était de $(469,7 \pm 1,9 \text{ mg/kg})$, avec une teneur résiduelle dans le filtrat égale à $151,9 \pm 1,5 \text{ mg/kg}$. La cuisson à la vapeur à 90° C , s'est présenté comme une étape à ne pas négliger dans le procédé de libération de HCN des glycosides lors de la macération.

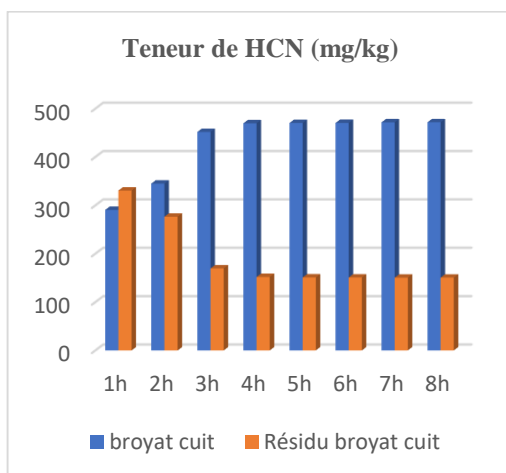
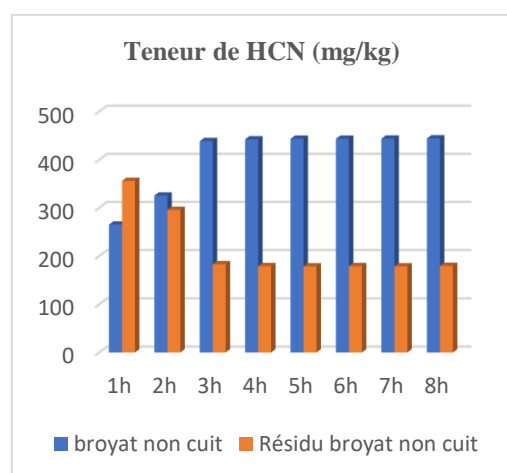


Diagramme 1



Digramme 2

Les travaux réalisés ont permis d'élaborer le procédé de détoxification des extraits d'amandes d'hévéa à partir de l'organigramme suivants :

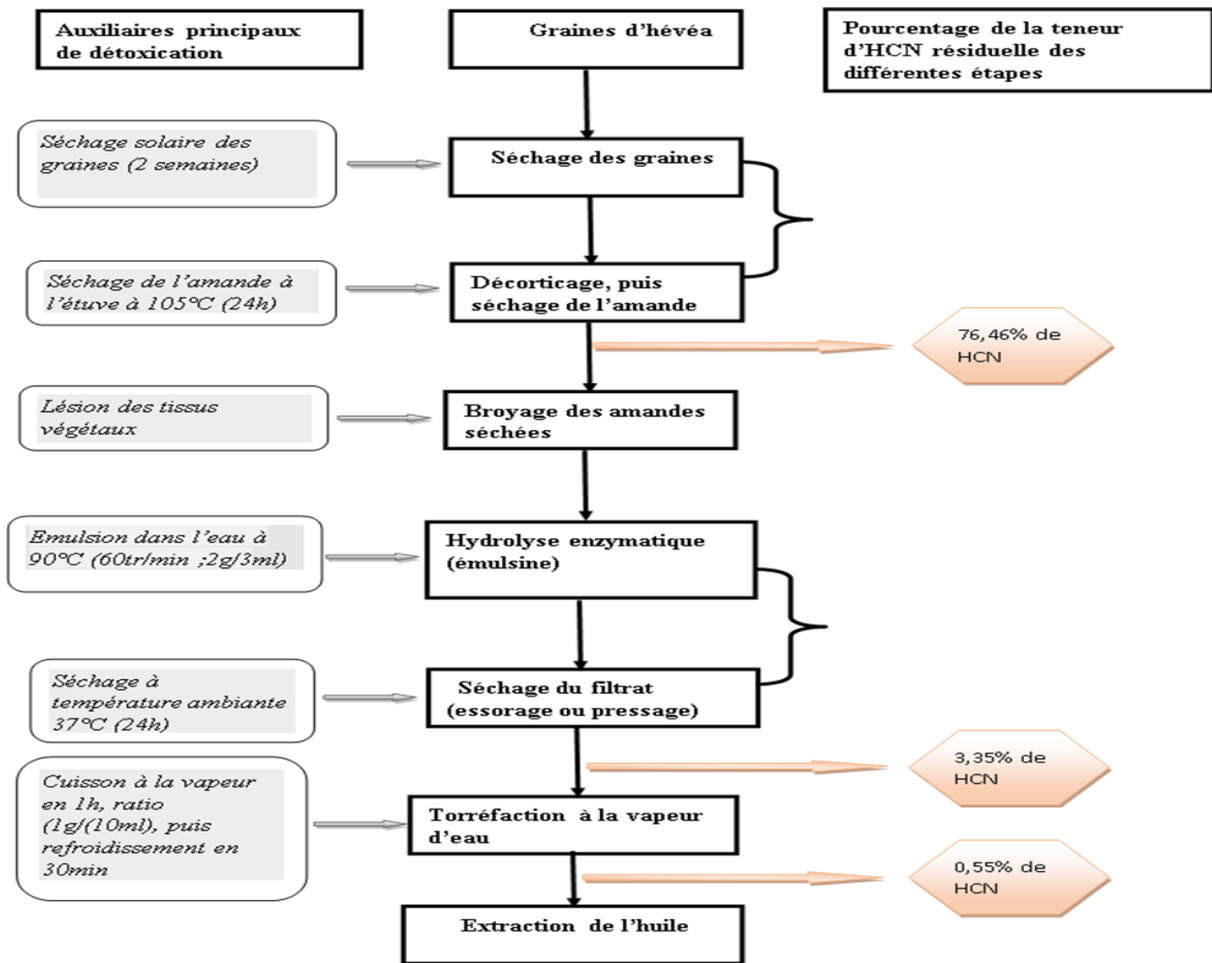


Figure g : Organigramme pour la détoxification des extraits d'amandes amères

Conclusion

La détoxification des extraits d'amande amère à des fins alimentaires est possible. Elle peut se dérouler en suivant les étapes opératoires sus-évoquées qui tiennent compte des facteurs tels que : la température, la granulométrie du broyat, le ratio masse broyat/ volume d'eau. Car l'acide cyanhydrique qui se trouve bloqué à l'état de combinaison est libéré dans ces conditions qui optimise l'hydrolyse des cyanoglycosides. Dans notre étude, l'extrait que nous visons est l'huile d'hévéa. Ce procédé de détoxification a permis de réduire la teneur résiduelle d'HCN du broyat jusqu'à une teneur 1,8mg/kg grâce à l'optimisation de l'hydrolyse de ces hétérosides selon le modèle Y90, permettant ainsi de produire une huile d'hévéa consommable.

En perspective, nous voulons valoriser les sous-produits agricoles, notamment les graines d'hévéa, en créant une valeur ajoutée à ce matériel végétal, cela permettrait d'améliorer le revenu de nos planteurs et de protéger l'environnement (la faune et la flore) contre cette toxine d'acide cyanhydrique.

Références bibliographiques

- [1] **Atchibri, L.O., Atcho, O., Kouakou, B., Keli, J., 2008.** La graine d'hévéa appauvrie en acide cyanhydrique par la méthode de triple séchage offre un tourteau propre à la consommation de la poule pondeuse. *Revue Africaine de santé et de productions Animales*, **6** (3-4), 195-198.
- [2] **FAO/WHO** (Food and Agricultural Organization/World Health Organization), 2012. Safety evaluation of certain food additives and contaminants prepared by the seventy-fourth meeting of the joint FAO/WHO expert committee on food additives. *WHO food Additives Series*, **65**, 1-833.
- [3] **Friedman M.**, Potato glycoalkaloids and metabolites: Roles in the plant and in the diet, *J. Agric. Food Chem.*, 2006, **54**(23), p. 8655. [14]
- [4] **Barel G.**, Ginzberg I., Potato skin proteome is enriched with plant defence components, *J. Exp. Bot.*, 2008, **59**(12), p. 3347.
- [5] **Li, H., Jiang, D., Liu, W., Yang, Y., Zhang, Y., Jin, C., & Sun, S. (2020).** Comparison of fermentation behaviors and properties of raspberry wines by spontaneous and controlled alcoholic fermentations. *Food Research International*, **128**, Article 108801.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108801>.
- [6] **Gningini Alain Kone.** Effet de l'incorporation de tourteaux de graines d'hévéa (*Hevea brasiliensis*) ou de tourteaux d'anacarde (*Anacardium occidentale*) sur les performances de pintades (*Numida meleagris*) en Côte d'Ivoire. *Science des productions animales*. Agrocampus Ouest, 2019. Français. NNT : 2019NSARC143ff. fftel-02787338f
- [7] **Didier Snoeck*, Régis Lacotea, Jules Kéli b, Amadou Doumbiac, Thierry Chapuset a, Patrick [8] Jagoret d, Éric Gohet .** Association of hevea with other tree crops can be more profitable than hevea monocrop during first 12 years 013. CIRAD, TA B34/02 – Avenue Agropolis – 34398, Montpellier Cedex 5, France b **CNRA** (Centre National de la Recherche Agronomique), Km17, Route de Dabou – 01 BP 1740 Abidjan 01, Côte d'Ivoire.
- [9] **Amani, G., Nindjin, C., N'zué, B., Tschannen, A., & Aka, D. (2007).** Potentialités à la transformation du manioc (*Manihot esculenta crantz*) en Afrique de l'Ouest. *Actes du 1er Atelier International*, p 358
- [10] **Ozun J, et al.** Un cas d'intoxication pédiatrique en Martinique par ingestion de feuilles crues de manioc. *Toxicologie Analytique & Clinique* (2014), <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxac.2014.04.006>.
- [11] **CEAEQ (CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC).** Détermination des cyanures : méthode colorimétrique automatisée avec l'acide isonicotinique et l'acide barbiturique – distillation manuelle, MA. 300 – CN 1.2, Rév. 4, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques du Québec, 2016, 26 p

[12] **SciCom** (COMITE SCIENTIFIQUE de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire), 2016. Proposition d'une limite d'action pour l'acide cyanhydrique dans les amandes d'abricot amères et douces. AVIS RAPIDE 11-2016. P5-25

[13] **Leibig-Denige, 1971**. Dosage de l'acide cyanhydrique. Meled. Landbouw Hogeschool : Wageningen 71, 13p.

[14] **Augustin Koffi YAO1 , Djary Michel KOFFI2*, Sika Hortense BLEI2 , Zaouli Bi IRIÉ1 et Sébastien Lamine NIAMKE, 2015**. Propriétés biochimiques et organoleptiques de trois mets traditionnels ivoiriens (attiéké, placali, attoukpou) à base de granulés de manioc natifs. Available online at <http://ajol.info/index.php/ijbcs> Int. J. Biol. Chem. Sci. 9(3): 1341-1353, June 2015 ISSN 1997-342X (Online), ISSN 1991-8631 (Print).

[15] **Poulton JE, 1990**.Cyanogenesis in plants. Plant physiology ; 94 :401-405.

[16] **Norme internationale ISO 2164**. Pulses-Determination of glycosidic hydrocyanic acid. Première édition-1975-09-15.

[17] **Kone G, A ; Kouakou D, V ; A-k E, M ; Kouame K, B ; Yeboue F ; Kouba D'anacadre Et De Pourghère Chez Les Porcs Durant La Gestation Et La Lactation. European Scientific Journal** Octobre 2016 édition vol.12.No.30 ISSN : 1857-7881 (Print) e-ISSN 1857-7431.

[18] **Bolarinwa I.F., Orfila C., Morgan M.R. 2014**. Amygdalin content of seeds, kernels and food products commercially available in the UK. *Food Chemistry*, 152, 133–139.

C8

Effets de deux biopesticides (astoun et ferca) à base d'extraits de plantes, utilisés dans la gestion des maladies fongiques foliaires, sur quelques facteurs de production du bananier

**KASSI Koffi Fernand Jean Martial^{1*}, AMARI Georges Elisée², TUO Seydou³, SILUE Tenena⁴,
CAMARA Brahma⁵, KONE Daouda⁶**

1Université Félix Houphouët Boigny, UFR Biosciences, Laboratoire de Biotechnologie Agriculture et valorisation des ressources biologiques, 22 BP582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

2Université Félix Houphouët Boigny, UFR Biosciences, Laboratoire de Biotechnologie Agriculture et valorisation des ressources biologiques, 22 BP582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

3Université Félix Houphouët Boigny, UFR Biosciences, Laboratoire de Biotechnologie Agriculture et valorisation des ressources biologiques, 22 BP582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

4Université Félix Houphouët Boigny, UFR Biosciences, Laboratoire de Biotechnologie Agriculture et valorisation des ressources biologiques, 22 BP582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

5Université Félix Houphouët Boigny, UFR Biosciences, Laboratoire de Biotechnologie Agriculture et valorisation des ressources biologiques, 22 BP582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

6Université Félix Houphouët Boigny, UFR Biosciences, Laboratoire de Biotechnologie Agriculture et valorisation des ressources biologiques, 22 BP582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

*fernand2kassi@yahoo.fr

Résumé:

Le retrait de plusieurs molécules chimiques dans la gestion des parasites en agriculture constitue une opportunité pour les biopesticides en plein essor. A leur effet de protection doit s'ajouter un effet bénéfique sur la production afin qu'ils puissent s'imposer comme alternatifs aux pesticides de synthèse. La capacité de deux biopesticides (Astoun et Ferca) efficaces contre la cercosporiose noire, à améliorer la productivité des bananiers a été prouvée dans un dispositif en bloc, sur une superficie de 3ha. Ces biopesticides ont été respectivement appliqués à la dose de 1,2 l/ha tous les 14 jours. Leurs effets sur quelques paramètres de croissance à la floraison et à la récolte ont été déterminés puis comparés à ceux du Dithane 60 OS (mancozèbe), fongicide de synthèse appliquée hebdomadairement à 2 l/ha. Ces différentes applications ont assuré au moins 9 feuilles fonctionnelles à la floraison, suffisantes pour assurer un bon remplissage des fruits. Le nombre de mains, de doigts et la masse des régimes ont été significativement supérieurs sur les parcelles traitées avec le biopesticide Ferca. Astoun et Ferca, peuvent servir d'alternatifs aux fongicides de synthèse pour la gestion de la cercosporiose noire tout en assurant une bonne production des bananiers.

Mots-clés : Biopesticides; productivité; Bananiers

Effects of two plant extract-based biopesticides (astoun and ferca), used in the management of foliar fungal diseases, on some production factors of banana

Abstract:

The withdrawal of several chemical molecules from pest management in agriculture is an opportunity for the rapidly developing biopesticides. In addition to their protective effect, they must also have a beneficial effect on production in order to establish themselves as alternatives to synthetic pesticides. The ability of two biopesticides (Astoun and Ferca), effective against black leaf streak disease, to improve banana productivity was demonstrated in a block design on a 3ha area. These biopesticides were respectively applied at the rate of 1.2 l/ha every 14 days. Their effects on some growth parameters at flowering and at harvest were determined and compared to those of Dothan 60 OS (mancozeb), a synthetic fungicide applied weekly at 2 l/ha. These different applications ensured at least 9 functional leaves at flowering, sufficient to ensure a good fruit filling. The number of hands, fingers and bunches mass were significantly higher in the plots treated with the biopesticide Ferca.

Astoun and Ferca, can serve as alternatives to synthetic fungicides for the management of black leaf streak disease while ensuring good banana production.

Keywords: Biopesticides; productivity; banana

1. Introduction

Chez le bananier, la maladie des raies noires (MRN), causée par le champignon ascomycète *Mycosphaerella fijiensis* MORELET [1] est la maladie foliaire la plus préjudiciable à sa production à travers le monde (Pasberg-Gaulh *et al.*, 2000) [2]. En Côte d'Ivoire, cette maladie détectée en 1985 dans la région d'Aboisso [3], est aujourd'hui présente dans toutes les zones de sa culture. Les dégâts causés par cette maladie se traduisent par des pertes de rendement pouvant atteindre 100 % et provoquent la maturité précoce des bananes [4]. Au vu des conséquences que peut engendrer cette maladie pour les producteurs de la filière, plusieurs méthodes de lutte ont été envisagées et la méthode la plus utilisée est la lutte chimique qui recommande préférentiellement des fongicides de synthèse [5]. Toutefois, bien que relativement efficace, l'utilisation de ces produits chimiques pose très souvent le problème de résidus de pesticides sur les récoltes et sont responsables d'une toxicité à long terme sur les organes de la plante et sur les consommateurs. De plus, le retrait progressif de plusieurs molécules chimiques pour la gestion des parasites en agriculture suscite beaucoup d'inquiétude pour les producteurs. Le besoin de nouvelles molécules non nocives et faciles à utiliser devient donc une urgence au niveau mondial. Une opportunité pour les biopesticides en plein essor qui en plus de leur effet de protection contre les parasites ou ravageurs doit s'ajouter un effet bénéfique sur la production afin qu'ils puissent s'imposer comme alternatifs aux pesticides de synthèse. La capacité de deux biopesticides (Astoun et Ferca) efficaces dans la gestion intégrée de la cercosporiose noire, à améliorer la productivité des bananiers est l'objectif de cette étude.

2. Matériel et méthodes

L'étude a été conduite en condition d'infestation naturelle de *Mycosphaerella fijiensis* dans la région du Sud Comoé, zone de forte pression parasitaire. Les biopesticides Astoun et Ferca ont été appliqués avec un atomiseur à une fréquence de 15 jours, à la dose de 1,2 l/ha dans une bouillie aqueuse sur une superficie de 3 ha de bananeraie de la variété Grande naine (GN 902) du groupe Cavendish. A la floraison puis à la récolte, le nombre de feuilles fonctionnelles a été déterminé. La masse des régimes, le nombre de mains et le nombre de doigts produits ont été déterminés puis comparés à ceux obtenus sur les parcelles traitées au Dithane 60 OS (mancozèbe) appliqué à 2 l/ha tous les 7 jours. Les observations des paramètres de productivité et de production se sont effectuées sur 2 différents postes d'observation par parcelle traitée. Chaque poste d'observation constitué de 10 bananiers était disposé sur une planche de 1000 m². Chaque planche de forme rectangulaire était composée de 2 doubles rangées de plants séparées de 3 m avec 1,7 m entre les rangées de plants et 2,2 m entre les plants sur une rangée. Des analyses de variance ont été effectuées pour évaluer l'effet des traitements sur les différents paramètres de productivité (NFF, NFR) et de production des bananiers (PR, NM, ND) des bananiers.

3. Résultats et discussion

3.1. Effet des traitements sur les facteurs de productivité du bananier (NFF, NFR)

Le nombre de feuilles fonctionnelles à la floraison (NFF), paramètre important pour le bon remplissage des fruits n'a pas été significativement différent sur les parcelles traitées avec les biopesticides (Astoun, Ferca) et le fongicide de synthèse (Dithane 60 OS) (Figure 1). Cette valeur a été en moyenne supérieure à 9 pour tous les traitements, suffisant pour un bon remplissage des fruits.

Pasted Graphic 4.pdf ↗

Figure 1: Effet des traitements sur le nombre de feuilles fonctionnelles à la floraison (NFF)

A la récolte, les Biopesticides ont montré la même capacité de protection des feuilles que celle du fongicide de synthèse (Figure 2). Le nombre de feuille fonctionnelle à la récolte a été respectivement de 3,6 sur les parcelles traitées avec FERCA; de 3,87 sur les parcelles traitées avec le fongicide de synthèse DITHANE et de 3,94 pour ASTOUN. Les Biofongicides et le fongicide de synthèse ont assuré plus de 3 feuilles fonctionnelles, suffisante pour bonne conservation post récolte des bananes.

Pasted Graphic 3.pdf ↗

Figure 2: Effet des traitements sur le nombre de feuilles fonctionnelles à la récolte (NFR)

3.2. Effet des traitements sur les facteurs de production du bananier.

L'application des biopesticides a montré un effet bénéfique sur les facteurs de production du bananier (Tableau 1). La masse des régimes, le nombre de mains et de doigts ont été significativement supérieurs sur les parcelles traitées avec les biopesticides.

Tableau 1: Effet des traitements sur quelques facteurs de production du bananier

TRAITEMENTS	Nombre de Mains	Nombre de Doigts	Masse du Régime (kg)
DITHANE (mancozèbe)	6,35 ± 0,67 b	114,60 ± 6,57 b	21,40 ± 3,35 ab
FERCA	7,10 ± 0,79 a	129,00 ± 14,22 a	23,20 ± 3,33 a
ASTOUN	7,15 ± 0,93 a	124,10 ± 20,92 ab	19,00 ± 4,13 b
MOYENNE	6,87 ± 0,87	122,57 ± 16,01	21,20 ± 3,96
PROBABILITE	<0.001	<0.001	<0.001
CV (%)	12,66	13,05	18,68

Cet essai d'efficacité antifongique des biopesticides dans les conditions de culture industrielle de la banane a permis de montrer que ceux-ci ont eu des effets significatifs sur le pathogène en réduisant ses dégâts sur les feuilles. Les biofongicides FERCA et ASTOUN à la dose de 1,2 l/ha ont permis d'obtenir plus de 9 feuilles fonctionnelles à la floraison et plus de 3 feuilles fonctionnelles à la récolte. L'activité antifongique des biopesticides formulés essentiellement à partir d'extraits de plantes aromatiques serait liée aux composés aromatiques et à leurs structures. Les biofongicides agiraient directement sur le pathogène et sur les organes de propagation [6]. Ces résultats apparaissent comme une preuve de plus quant aux propriétés fongicides ou fongistatiques des produits biologiques déjà mentionnées par un certain nombre de chercheurs. Ainsi que l'ont démontré [7], les bananiers des parcelles traitées avec le biofongicide NECO se sont révélés moins sujets à l'infection de *Mycosphaerella fijiensis*, agent responsable de la cercosporiose noire que ceux des parcelles témoins. Les premiers symptômes (rang de la plus jeune feuille touchée (PJFT)) ont été majoritairement observés sur les feuilles de rang 2 dans les parcelles témoins et de rang 3 dans les parcelles traitées, rendant ainsi compte de la baisse de la pression parasitaire suite aux applications de NECO. L'efficacité du produit biologique FERCA serait due au composé majoritaire (Citronellal). Par ailleurs les travaux de [8], ont permis de montrer l'activité insecticide de l'huile essentielle de *Cymbopogon nardus*, donnant un taux de mortalité de 99,5±0,50 à 100 µL des adultes de *Sitophilus zeamais* après 72h d'application de l'huile. Or cette huile essentielle a pour composés majoritaires le citronellal (30,58 %) et le géraniol (23,93 %). De même, après analyse chimique de l'huile essentielle de l'écotype Ivoirien de *Cymbopogon nardus*, le citronellal et le géraniol ont été décelés comme composés dominants respectivement dans des proportions de 29,2 et 29,3% [9]. Le Bon rendement obtenu sur les parcelles traitées avec FERCA et ASTOUN résulterait du nombre et du bon état sanitaire des feuilles dès la floraison des bananiers.

4. Conclusion

Les maladies fongiques foliaires et particulièrement la cercosporiose noire sont les contraintes majeures en bananeraie. L'essai d'efficacité des biofongicides pour le contrôle des pathogènes associés aux maladies fongiques foliaires du bananier s'est montré très prometteur. A l'activité antifongique de ces biofongicides s'est associée un effet bénéfique sur le rendement des bananiers traités. FERCA et FERCA disposent des atouts nécessaires pour valablement remplacer les fongicides de synthèse pour la gestion

des parasites fongiques foliaires en bananeraie.

5. Bibliographie

- [1]. Stover R.H. Sigatoka leaf spots of bananas and plantains. *Plant Disease*, (1980)64: 750-755.
- [2]. C. Pasberg-gauhl and F. Gauhl, “Response to east African Highland Bananas to black leaf streak sigatoka and Cladosporium leaf speckle under tropical humid forest and conditions in West Africa”. In: *Banana and Plantain for Africa*. K. Craenen *et al* (Eds). Proc. I. Int. Symp Acta Hort. 540 p. 2000
- [3]. Mourichon X. & Fullerton A.. Développement de *Mycosphaerella musicola* (maladie de Sigatoka) et *Mycosphaerella fijiensis* (maladie des raies noires). Etude du cas particulier des productions d’altitude. (1990)*Fruits*, 45 (1) : 17-24.
- [4]. M. Chillet, C. Abadie, O. Hubert, Y. Chilin-Charles, L. de Lapeyre de Bellaire, “Sigatoka disease reduces the green life of bananas”. *Crop Protection*, 28 (1): 41-45, 2009
- [5]. Polaniyandi, S.A, Yang, S.H., & Cheng, J.H.,. Biological Control of anthracnose (*Colletotrichum gloeosporoides*) in yam by *steptomycetes* sp.M J M 5763. *Journal of Applied Microbiology*,(2011) 111: 443-455
- [6]. Camara B., Kone D., Coffi K. C., Abo A. & Aké S. Activité antifongique des huiles essentielles de *Ocimum gratissimum* L., de *Monodora myristica* (Gaaertn) Dunal et de deux produits de synthèse (Impulse et Folicur), sur la croissance mycélienne et la production de spore *in vitro* de *Deightoniella torulosa* (Syd.) Ellis *Revue Ivoire Science Technology* (2007). 09 : 187 – 201.
- [7]. Kassi F. M., Badou O. J., Tonzibo Z. F., Salah Z., Lndge A. & Kone D., Action du fongicide naturel NECO contre la cercosporiose noire (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) chez le bananier plantain (AAB) en Côte d’Ivoire. *Journal of Applied Biosciences*, (2014) 75 : 6183-6191
- [8]. Ouedraogo, I., Sawadogo, A., Nebie, R.C.H & Dakoua, D. Evaluation de la toxicité des huiles essentielles de *Cymbopogon nardus* (L) et *Ocimum gratissimum* (L) contre *Sitophilus zeamais* Motsh et *Rhizopertha dominica* F, les principaux insectes nuisibles au maïs en stockage au Burkina Faso. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, (2016)10 (2): 695-705
- [9]. Doumbia M, Yoboue K, Kouamé KL, Coffi K, Kra KD, Kwadjo KE, Douan BG, & Dagnogo M.,. Toxicity of *Cymbopogon nardus* (Glumales: Poacea) against four stored food products insect Pests. *International Journal of Farming Allied Sciences*, (2014)3 (8): 903- 909.

Qualité nutritionnelle et sensorielle d'une farine infantile enrichie au soja et à la spiruline et test de récupération nutritionnelle chez les enfants de 6 à 24 mois au Niger

¹amadou Moussa Abdoul Razak, ¹mahamadou Lewami, ²yaou Chaibou, ²alpha Gado Boureima,
³alkassoum Ibrahim, ¹houa Sabo Seini, ¹hassoumi Sadou

¹Département de chimie, Faculté des sciences et techniques, Université Abdou Moumouni de Niamey
²Département de biologie, Faculté des sciences et techniques, Université Abdou Moumouni de Niamey

³Département de production végétale, Faculté d'Agronomie, Université Abdou Moumouni de Niamey

⁴Ministère de la santé publique (MSP)

⁵Centre de santé intégré de Bangoubanda de liboré (CSI)

RESUME

Au Niger, à partir de 6 mois, la plupart du temps, les aliments compléments et bouillies infantiles ne couvrent pas tous les besoins des enfants en matière de protéines, lipides, glucides et micronutriments. Cela peut plonger les enfants dans la malnutrition. Dans la présente étude, nous avons enrichi une farine de sevrage avec de la spiruline, du soja et une huile végétale. Cette dernière prend le nom de farine CSS+ (farine Céréale+ Soja+ Spiruline). Puis nous avons évalué l'efficacité thérapeutique de cette farine chez des enfants atteints de malnutrition aiguë modérée au (C S I) de bangoubanda de liboré pendant deux semaines. Le rapport poids/taille (Z-Score) est utilisé pour statuer sur le degré de la malnutrition. Elle a consisté en une réhabilitation nutritionnelle en ambulatoire de deux cohortes de 15 enfants malnutris de 6 à 24 mois. Les enfants de la première cohorte sont récupérés à base de la farine, pour la deuxième cohorte, représentant les témoins, les enfants ont reçu la ration à base du plumpy-nut. La farine CSS+ a la composition suivante : 14,19% de protéine, 8,19% de lipide, 76,44% glucide et 2,46% d'humidité, 1,16% de cendre pour une valeur énergétique de **437,98 Kcal**. Avec la farine on a enregistré un taux de guérison de 80% et 87% pour la récupération avec du plumpy-nut. Le gain moyen de poids est de 8,24 g/j pour la farine et 8,02g/j pour le plumpy-nut. Cette étude a montré que le complexe céréale-légumineuse-spiruline est aussi très nutritif. Il s'agit d'un nouveau produit du point de vu industrielle et agro-alimentaire, qui constitue par conséquent une valorisation des denrées locaux.

Mots clés : Enfant 6 à 24 mois, malnutrition aiguë modérée, prise en charge, farine CSS+, enrichie, spiruline, soja, huile végétale, Niger.

ABSTRACT

In Niger, from 6 months, most of the time, infant food supplements and porridge do not cover all the needs of children in terms of proteins, lipids, carbohydrates and micronutrients. This can plunge children into malnutrition. In the present study, we fortified a weaning flour with spirulina, soybeans and vegetable oil. The latter takes the name of CSS + flour (Cereal + Soy + Spirulina flour). We then

evaluated the therapeutic efficacy of this flour in children with moderate acute malnutrition at the Bangoubanda CSI in Liboré for two weeks. The weight / height ratio (Z-Score) is used to judge the degree of malnutrition. It consisted of an outpatient nutritional rehabilitation of two cohorts of 15 malnourished children aged 6 to 24 months. The children of the first cohort are recovered based on flour, for the second cohort, representing the witnesses, the children received the ration based on plumpy-nut. CSS + flour has the following composition: 14.19% protein, 8.19% fat, 76.44% carbohydrate and 2.46% moisture, 1.16% ash for an energy value of 437.98 Kcal. With flour we recorded a cure rate of 80% and 87% for recovery with plumpy-nut. The average weight gain is 8.24 g / d for the flour and 8.02 g / d for the plumpy-nut. This study showed that the cereal-legume-spirulina complex is also very nutritious. This is a new product from an industrial and agri-food point of view, which consequently constitutes an enhancement of local foodstuffs.

Keywords: Child 6 to 24 months, moderate acute malnutrition, treatment, CSS + flour, fortified, spirulina, soy, vegetable oil, Niger

INTRODUCTION

Les populations des pays en développement (PED) souffrent le plus de malnutrition par carence d'apport. La malnutrition représente un défi considérable pour la santé humaine, notamment dans ces pays.

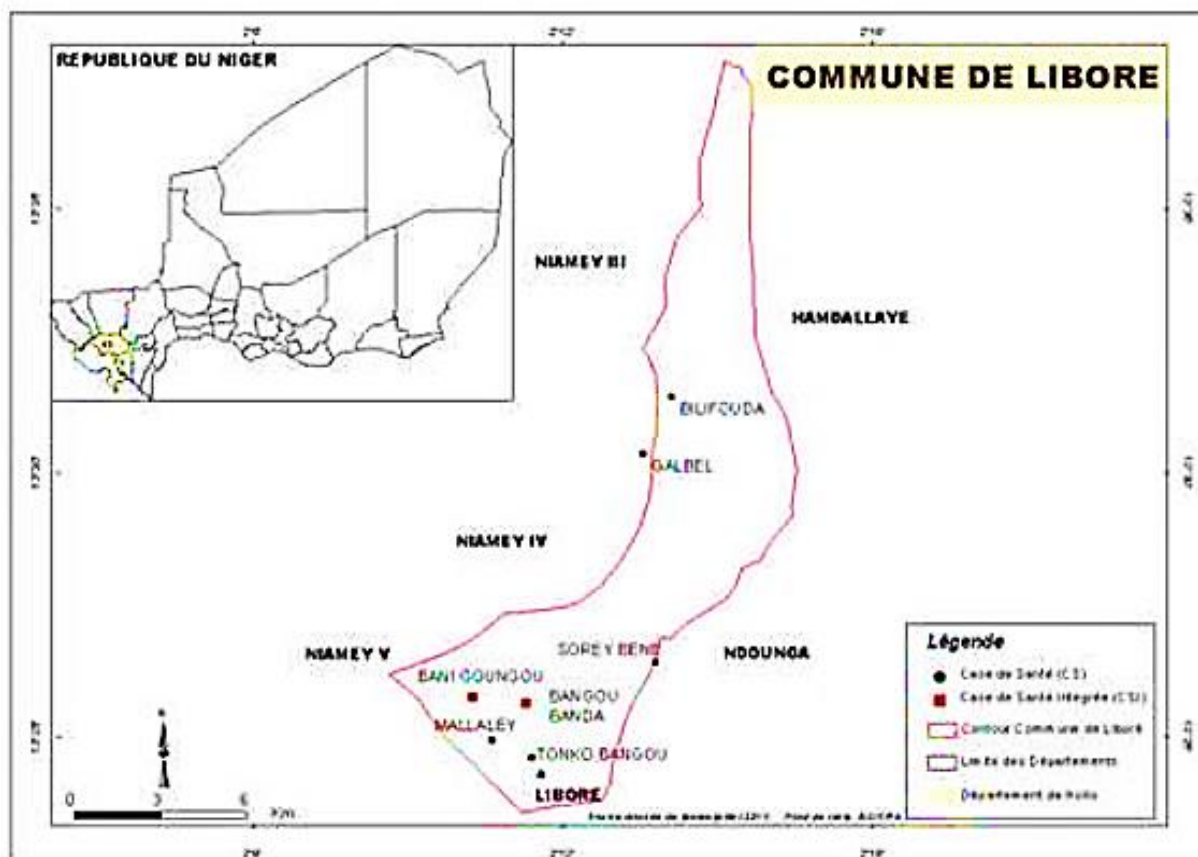
Au Niger, les taux de malnutrition restent encore élevés, tant pour les formes chroniques que pour les formes aiguës. Sur l'ensemble du pays, le taux de malnutrition chronique des enfants de moins de 5 ans est de 45,1 %. La prévalence de la Malnutrition Aigüe Globale (MAG) est de 12,7%. Cette prévalence est au-dessus du seuil élevé de 10% fixé par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) en matière de santé publique. Quant à la prévalence de la malnutrition aigüe sévère, elle est de 2,6% dépassant le seuil critique de 2% de l'OMS. La forme modérée observée 10,1% est à la limite comparable à celle observée en 2019 qui était de 8,0%. La MAG affecte plus les garçons (15,1%) que les filles (10,4%) de même elle touche plus les enfants de 6 à 23 mois (18,9%) que ceux de 24 à 59 mois (9,1%). Selon l'évaluation nationale de la situation nutritionnelle par la méthodologie SMART au Niger (INS, 2020). Un peu plus de six (6) enfants de 6-59 mois sur dix (63,3 %) sont atteints d'anémie. Près de cinq (5) femmes adultes (15-49 ans) sur dix (10) sont anémiques (46 %). Au niveau national, la prévalence de l'anémie globale chez les enfants de 6 à 59 mois est de 63,3 % et chez les femmes âgées de 15 à 49 ans, elle est de 58,4%. Ces prévalences sont largement au-dessus du seuil grave de 40% de l'OMS. Au Niger, la dénutrition demeure un problème de santé publique et elle varie traditionnellement avec la période de soudure. Certes, cette situation est aussi liée aux déficits alimentaires chroniques observés dans plusieurs zones vulnérables. Elle résulte également des maladies infectieuses et parasitaires (paludisme, rougeole, diarrhées, infections respiratoires aiguës) fréquentes chez l'enfant, dans un contexte de système de soins déficient, de connaissance insuffisante des bonnes pratiques besoins d'alimentation du nourrisson et du jeune enfant, mais aussi des pratiques culturelles

inappropriées pour une bonne croissance de l'enfant en bas âge, les plus touchés sont ceux de la tranche d'âge de 6 à 24 mois. La faible diversification de l'alimentation des jeunes enfants et le faible apport après le sevrage, contribuent fortement au phénomène de la malnutrition. (Chevassus-Agnès, 1999). Dans les villes du Niger, une grande variété d'aliments de complément pour les enfants et les laits enrichis sont disponibles sur le marché. Ce sont des produits de grande qualité, généralement normés. Ces produits coûtent chers pour les ménages pauvres. Cette recherche va dans la même vision de contribuer au Politique Nationale de Sécurité Nutritionnelle pour la période 2016-2025 dont l'objectif est d'atteindre l'ODD 2 qui consiste à éliminer la faim, assurer la sécurité alimentaire, améliorer la nutrition et promouvoir l'agriculture. Ce dans ce sens que s'inscrit cette étude qui a comme objectif général de Contribuer à prévenir et à réduire la malnutrition aigüe modérée des enfants âgés de 6 à 24 mois au Niger. Pour atteindre l'objectif général il en ressort des objectifs spécifiques qui consistent à :

- Mettre au point une farine infantile à base des denrées locales (Maïs, riz,) enrichie de la farine à base de la spiruline et soja pour augmenter la teneur en protéines et micronutriments.
- Etudier la qualité sensorielle de la farine.
- Apprendre aux mères comment préparer et administrer de la bouillie à base de la farine CSS+.
- Tester l'efficacité thérapeutique de la farine fabriquée sur la malnutrition aigüe modérée des enfants âgés de 6 à 24 mois.
- Étudier les variations des indicateurs anthropométriques en fonction des prises de la ration et du temps.

I. MATERIEL ET METHODES

Le cadre d'étude



Carte géographique de la commune de Liboré

Source : (Oumarou et al, 2014).

Sur les 3 CSI que compte la commune de liboré, l'étude a été réalisée dans le CSI de bangoubanda de liboré (voir carte). En effet, il est doté d'un CRENAS et reçoit le plus grand nombre des malnutris. La récupération nutritionnelle à base de la farine vise les enfants malnutris aigues modérés âgés de 6 à 24 mois, vus en consultation nutritionnelle.

Processus techno-fonctionnel de fabrication de la farine.

Critères de choix des denrées

Les matières premières utilisées dans la fabrication de notre farine sont choisies selon les critères suivants :

- Les valeurs nutritionnelles des ingrédients pouvant satisfaire les besoins des enfants ;
- Les habitudes alimentaires de la population ;
- La disponibilité et le coût des matières premières.

Parmi les divers produits existant sur le marché local, notre choix s'est porté sur le MAÏS et le RIZ comme céréales, le SOJA comme légumineuse et la SPIRULINE comme source de vitamines et de minéraux.

Matériels utilisés

Broyeur à graine, Torrificateur, Balance, Tamis, fiche de surveillance des paramètres anthropométriques, le Ruban pour le MUAC.

Formulation de la farine

Formuler une farine infantile consiste à déterminer les proportions dans lesquelles les denrées doivent être mélangées pour répondre aux besoins nutritionnels fixés.

Tenant compte des besoins nutritionnels fixés, nous avons formulé une farine infantile à partir de simple calcul tenant compte la composition nutritionnelle pour 100g des denrées. Mais il y'a lieu de notifier que la portée de cet aspect théorique peut être modifié dans la pratique. C'est ainsi que nous avons utilisés la table de composition standard de FAO/OMS (2005). Le calcul théorique nous permet de garder la formule de la farine (Tableau I), qui se rapproche à la formule standard de l'OMS.

Tableau I : Quantité des denrées en gramme pour préparer 100g

Ingrédients	Quantité en gramme pour 100g de farine
Maïs	35
Riz	25
Soja	20
Spiruline	10
Sucre blanc	10

L'huile végétale est utilisée lors de la préparation de la bouillie en raison de 5 g d'huile (= une cuillère à café) végétale pour 100g de farine.

Conditionnement et conservation de la farine

Nous utilisons les sachets en polyéthylène (PE) pour l'emballage

Tenue de travail : port de bonnets, gants, et habits propres.

Hygiène individuelle :

Le lavage des mains et des ongles est obligatoire avant de commencer le travail et après chaque visite aux vestiaires et toilettes et après avoir manipulé les palettes ou autres équipements susceptibles de contamination

Stockage :

Les produits seront stockés dans des conditions telles que le développement et la multiplication des micro-organismes soient impossibles ; que leur présence soit facilement détectable, et leur destruction soit aisée, environnement sec sans humidité.

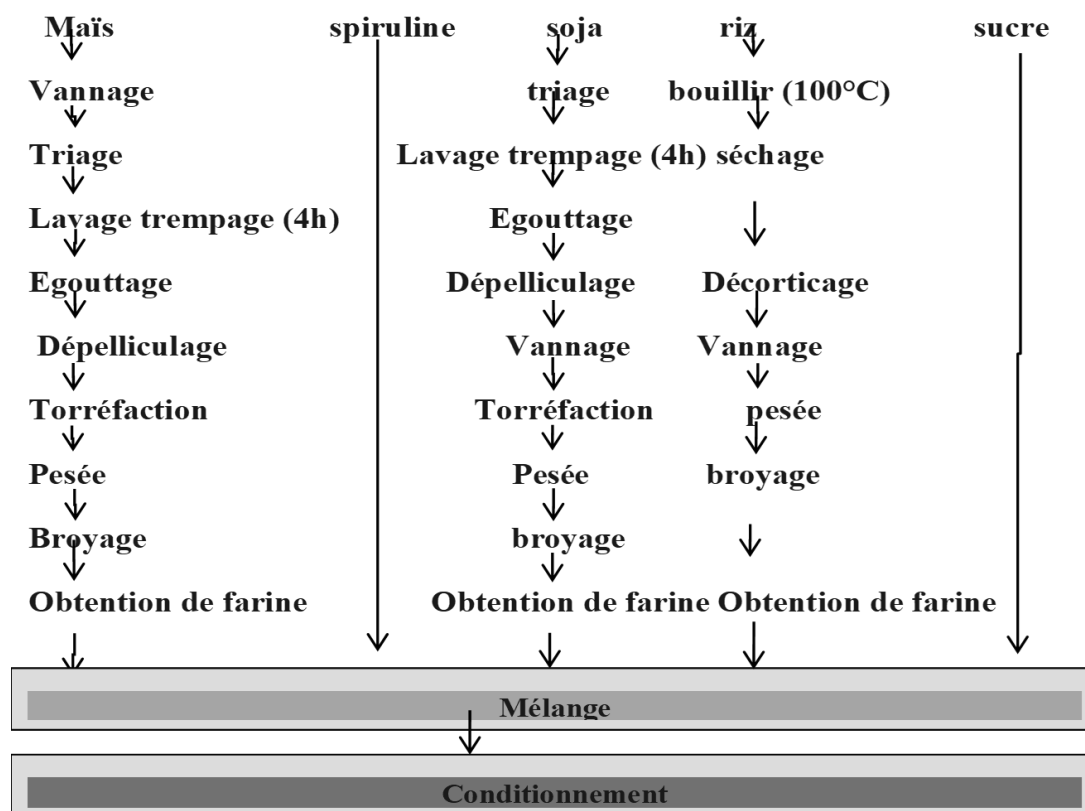


Diagramme de fabrication de la farine CSS+

Analyses sensorielles

« L'analyse sensorielle est une méthode permettant de déterminer les qualités et les caractéristiques organoleptiques d'un produit à travers les organes des sens de l'homme »

(Lalaina, 2000).

Choix des sujets

Plusieurs critères de sélections sont utilisés :

- ✓ La motivation technique sur l'évaluation sensorielle
- ✓ Le sexe, l'Age, disponibilité
- ✓ Capacité de compréhension et d'expression
- ✓ L'aptitude à différentier et à décrire le produit (Lalaina, 2000).

Présentation de l'échantillon

A chaque participant il est donné de la farine et de l'eau pour préparer la bouillie,

Au total nous avons 15 participants entraînés.

L'environnement

L'épreuve se déroule dans une salle calme, odeur aérée, température ambiante.

La conduite des épreuves

Avant toutes choses, les participants sont sensibilisés et formés sur les méthodologies, les critères et le but de l'analyse sensorielle.

Les épreuves sont choisies en fonction de notre objectif sur l'analyse ici nous voulons faire une description et l'acceptation de la farine.

Les épreuves descriptives

L'intérêt de l'analyse réside dans la définition du produit avec des descripteurs appropriés à l'évaluation d'intensité de ces propriétés sensorielles. (Lalaina, 2000).

Ainsi nous avons effectué l'épreuve descriptive quantitative qui permet de déterminer : la couleur, la saveur, l'aspect et l'odeur. L'épreuve descriptive qualitative permet de d'évaluer : l'arôme, la saveur, la texture.

Les épreuves hédoniques

Il s'agit d'évaluer l'appréciation du produit par les consommateurs cibles.

Le test d'acceptation, réalisé afin de savoir si la farine est acceptée ou non par les consommateurs cibles (enfants).

Analyse biochimique du laboratoire

Les analyses biochimiques permettent de déterminer la qualité nutritionnelle de la farine, notamment le taux d'humidité, de protéine, de matières grasses, et de cendre.

Méthode de dosage des protéines

La méthode Kjeldahl est la méthode de référence pour la détermination des protéines dans les aliments.

Calcul du % de protéines dans l'échantillon

$$\% \text{ protéines} = \% \text{ N} \times F = (\text{VE} - \text{VB}) \times \text{CN} \times 14,01 \times F / M$$

-%N = % d'azote

- CN = Concentration d'azote

- VE = Volume équivalence

- VB= volume de la base

- M = Masse de l'échantillon.

Détermination de la teneur en Matières grasses

Le principe est basé sur l'extraction d'une prise d'essai à l'hexane par percolation, suivis d'une élimination du solvant par distillation et enfin d'une dessiccation du résidu à l'étuve et la pesée de celui-ci.

Calcul : Matières grasses (%) = $100 \times (P_3 - P_2) / P_1$.

-P₃=Poids du ballon + Matière grasse

-P₂= Poids du ballon à vide.

-P₁=Poids de la farine

Détermination de la teneur en eau (humidité) de la farine

Elle se base sur la déshydratation de la farine à l'étuve à 100°C.

Calcul : Humidité (%) = $100 \times (1 - (P_2 - P_0) / P_1)$

-(P₂) = P₀+ Poids de la farine après étuvage

- P₀= Poids à vide du creuset

-P₁= Poids de la farine.

Détermination de la teneur en cendres

Les cendres sont mesurées par incinération au four à 600 °C pendant 6 heures. **(Annexe 6).**

Calcul : Cendre (%) = $100 \times ((P_2 - P_0) / P_1)$

-P₀= Poids à vide du creuset

-P₁= Poids de la farine.

-P₂= Creuset après minéralisation

Détermination de la teneur en glucide

Après avoir calculé la teneur en protéine, matière grasse, Cendre, Eau, on peut déduire la teneur en glucides totaux contenu dans la farine et aussi déterminer l'apport calorique pour 100g de la farine.

% en glucides totaux= 100 - % en protéines+% Matière grasse+% Cendre+% Eau

Valeur énergétique de la farine

La valeur énergétique de la farine est déterminée par la méthode de calcul.

1 g de glucide libère 4 Kilocalories

1 g de protéine libère 4 Kilocalories

1 g de lipide libère 9 Kilocalories

Méthodes de préparation de la bouillie normes et dosages

Un volume de farine (maïs +soja+ riz+ sucre+ spiruline) + huile + 4 volumes d'eau à mélanger et à faire cuire pendant 10 à 15 minutes. La bouillie est faite selon la convenance de l'enfant.

Farine

eau



Les quantités de farine sont calculées et rapportées dans le tableau ci-après.

Tableau II : Quantité de farine pour la préparation de bouillie, par repas et par jour

Ages	Poids (kg)	Energie kcal /j	Quantité farine g/Jour	Quantité de farine g/Repas
6-8 mois	8,3	916	209,14	69,71 en 3repas/J
				52,28 en 4repas/J
9-11 mois	9,6	1000	228,32	76,10 en 3repas/J
				57,08 en 4repas/J
1ans	11,4	1200	273,98	91,32 en 3repas/J
				68,49 en 4repas/J
2ans	13.6	1400	319,64	106,54 en 3repas/J
				79,91 en 4repas/J

RESULTATS-DISCUSSIONS

Résultats des Analyses sensorielles

A partir des types d'appréciations apportés aux caractéristiques organoleptiques de la farine par les sujets, nous avons pu déterminer des descripteurs des caractéristiques sensorielles de la farine :

Tableau III : repartitions des descripteurs sensoriels par intensité moyenne de perception rapporté par les sujets

ASPECT/COULEUR	TEXTURE	SAVEUR	AROME
Jaune verdâtre	Homogène	Spiruline	Soja
Moyennement jaune	Granuleuse	(saveur poisson)	Spiruline
Blanchâtre	Grumeleux	Sucre	(saveur poisson)
	Onctueux	Moins sucre	Soja-poisson
	Peux grumeleux		

Les résultats de l'épreuve descriptive nous ont permis d'élaborer la répartition des descripteurs sensoriels par intensité moyenne de perception rapporté par les sujets

Epreuves descriptives quantitatives

Tableau IV : Moyennes des intensités des caractéristiques organoleptiques

Aspects/couleur				Texture			
jaune verdâtre	Moyennement jaune	blanchâtre au vert	Homogène	Granuleuse	Grumeleux	Onctueux	Peux grumeleux
4,3	2,7	0	4,5	0	1	2,1	1
Saveur			Arôme/odeur				
Spiruline : saveur du poisson		Sucré	Moins sucré	Spiruline odeur du poisson	Soja	Soja-spiruline	
2		4,8	1	1,3	4	4,9	

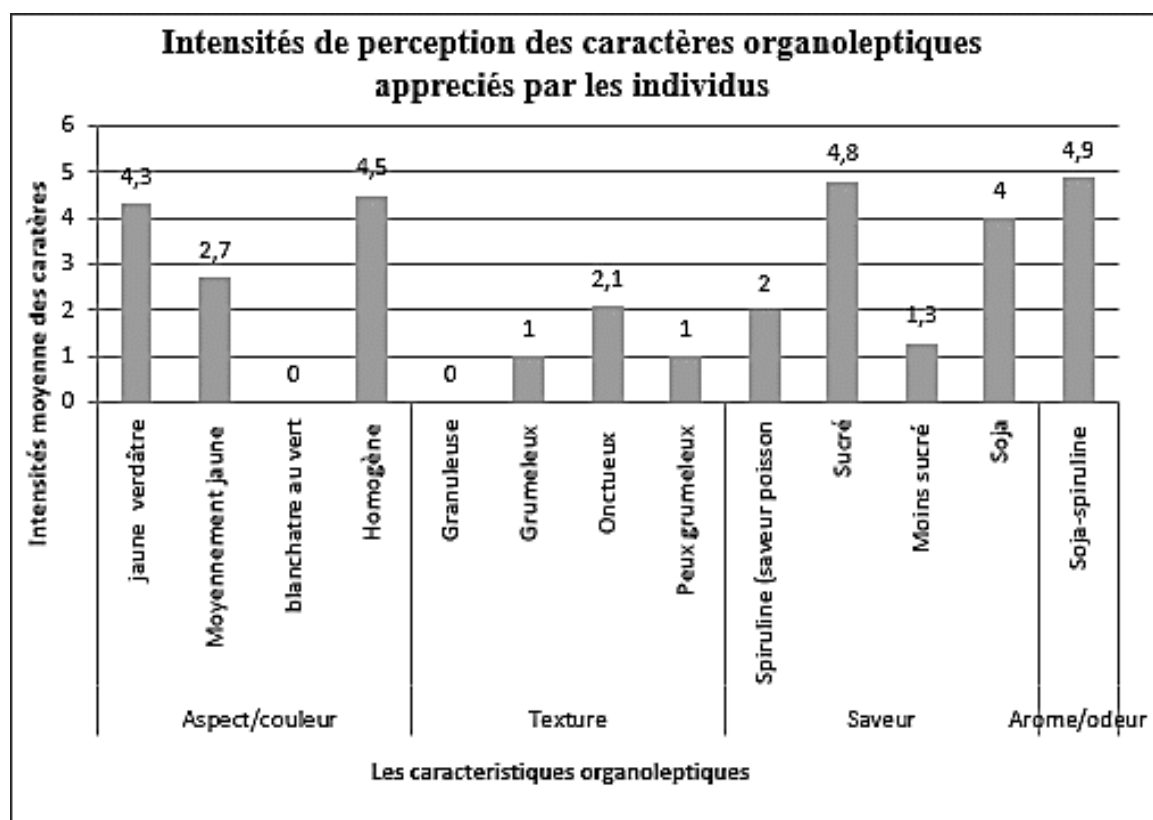


Figure 1 : Répartition des appréciations de la farine par les sujets

En général, la majorité des sujets intervenus dans le test de contrôle sensoriel se sont penchés vers les caractères organoleptiques suivant :

- ✓ Couleur jaune verdâtre : Intensité moyenne (4,3)
- ✓ Texture homogène : Intensité moyenne (4,5)
- ✓ Saveur sucrée : Intensité moyenne (4,8)
- ✓ Arôme soja-spiruline : Intensité moyenne (4,9)

Il faut noter que le soja a une odeur au voisinage du poisson séché, cette odeur de la spiruline combinée au soja est à l’origine de l’arôme complexe soja-spiruline comme le montre la **figure 2**, la plus grande intensité d’appréciation en termes d’arôme indiqué par les dégustateurs est la sensation de soja combiné à la spiruline c’est à dire l’odeur du poisson.

Résultats des tests d’acceptation

Tableau V : Répartition de l’appréciation de la farine

Agréable	Assez agréable	Ni agréable ni désagréable	Assez désagréable	Désagréable
9	3	2	1	0

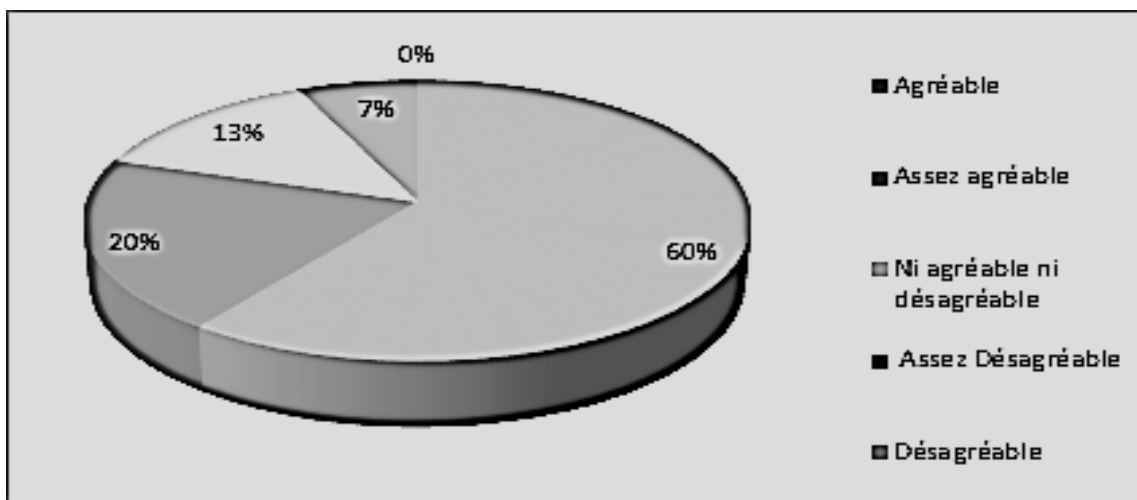


Figure 2 : Répartition de l’appréciation de la farine

Rappelons qu'une bouillie est préparée pour que les mères le fassent goûter à leurs enfants.

Ces dernières nous ont répondu sur comment l'enfant a-t-il trouvé la bouillie selon leur impression comme le montre la figure

Résultats des analyses biochimiques

L'analyse biochimique au laboratoire de nutrition de productions animales nous a donné des résultats présentés dans le tableau VI pour trois répétitions.

Tableau VI : Apports nutritionnels pour 100g de farine CSS+

Composition (%) /100g de farine	Protéines	lipides	glucides	cendre	Humidité
Essai 1	14,28	8,86	75,68	1,17	2,98
Essai 2	14,48	8,21	76,16	1,14	2,71
Essai 3	13,81	7,52	77,48	1,17	1,68
Moyennes des trois essais	14,19	8,19	76,44	1,16	2,46
Ecart-types des trois essais	0,34	0,67	0,93	0,01	0,68

Les résultats présentés dans le tableau ci-dessus nous montrent que la farine CSS+ fabriquée a des qualités nutritionnelles. **100g de la farine libère en moyen 437,98 Kcal**. L'humidité de la farine est de 2,46% ce qui montre 97.54% de matières sèches. Ce pourcentage montre les caractéristiques d'une farine facile à conserver et réduit les risques de développement des moisissures. En plus le taux élevé de matière sèche est une caractéristique de farine nutritive, vu que les graines ont été torréfiées et déshydratés avant leur concassage, en plus de conservation, les risques d'oxydation sont limités.

Les proportions nutritionnelles importantes montrent que la farine peut être utilisée dans les sevrages et préventions des carences protéino-énergétiques des enfants.

L'efficacité thérapeutique de la farine

Les paramètres anthropométriques de départ

Les enfants vus en consultation nutritionnelle, représentés en deux groupes ont été diagnostiqués et les paramètres anthropométriques de départ ont servi de référence pour les suivis nutritionnels. Pour les deux groupes de patients les paramètres mesurés sont présentés dans les tableaux VII et VIII.

Tableau VII : paramètres anthropométriques de départ pour les enfants au traitement à base de la farine CSS+

Fiche de surveillance des paramètres anthropométriques pour les enfants au traitement à base de la farine CSS+							
Numéros	Sexe m/f	Age (mois)	Poids (kg)	Taille (cm)	Périmètre Brachial (mm)	Poids/taille (z-score)	Type de malnutrition (sévère/ Modérée)
1	M	16	7,40	73	120	< -2 et ≥ -3	Modérée
2	F	24	7,60	82	115	< -3 et/ou œdèmes bilatéraux	Sévère
3	M	12	6,30	67	123	< -2 et ≥ -3	Modérée
4	M	10	6,20	69	115	< -3 et/ou œdèmes bilatéraux	Sévère
5	F	12	6,40	66	124	< -2 et ≥ -3	Modérée
6	F	24	5,20	64	115	< -3 et/ou œdèmes bilatéraux	Sévère
7	F	18	7,00	73	123	< -2 et ≥ -3	Modérée
8	F	14	5,90	69	115	< -3 et/ou œdèmes bilatéraux	Sévère
9	F	8	4,50	85	120	< -2 et ≥ -3	Modérée
10	F	12	4,50	66	110	< -3 et/ou œdèmes bilatéraux	Sévère
11	M	8	6,40	70	115	< -3 et/ou œdèmes bilatéraux	Sévère
12	M	13	7,50	74	120	< -2 et ≥ -3	Modérée
13	F	8	6,20	66	120	< -2 et ≥ -3	Modérée
14	F	12	7,00	74	120	< -2 et ≥ -3	Modérée
15	F	11	5,60	64	120	< -2 et ≥ -3	Modérée

Pour les 15 enfants, pris pour la récupération avec la farine, les poids varient entre 4,5 kg et 7,60 kg. Ces poids sont inférieurs au poids normaux de croissance des enfants par rapport à leurs âges. Les enfants ont été classés en fonction de leurs degrés de malnutrition à travers l'indice P/T qui est exprimé en Z-score et le PB. Les P/T < -2 et ≥ -3 et 125 > PB ≥ 115 mm sont qualifiés de MAM et les P/T > -3 et/ou œdèmes bilatéraux et PB < 115 mm sont qualifiés de MAS et les P/T > -2 sont sains. Le tableau VII nous montre que 9 enfants sont MAM et 6 sont MAS.

Tableau VIII : Paramètres anthropométriques de départ pour les enfants au traitement à base d'un autre aliment thérapeutique (ATPE) : Le plumpy-nut

Fiche de surveillance des paramètres anthropométriques pour les enfants au traitement à base d'un autre aliment thérapeutique (ATPE) : le plumpy-nut							
Numéros	Sexe m/f	Age (mois)	Poids (kg)	Taille (cm)	Périmètre Brachial (mm)	Poids/taille (z-score)	Statut Nutritionnel (sévère/ Modéré)
1	M	10	6,50	70,5	120	< -2 et ≥ -3	Modéré
2	M	8	5,40	63,0	120	< -2 et ≥ -3	Modéré
3	F	12	5,20	61,0	122	< -2 et ≥ -3	Modéré
4	M	14	6,50	70,0	123	< -2 et ≥ -3	Modéré
5	M	16	6,40	69,0	120	< -2 et ≥ -3	Modéré
6	F	6	5,20	61,0	120	< -2 et ≥ -3	Modéré
7	M	10	3,40	54,0	120	< -2 et ≥ -3	Modéré
8	M	15	6,60	74,0	115	< -3 et et/ou œdèmes bilatéraux	Sévère
9	F	11	5,80	65,0	120	< -2 et ≥ -3	Modéré
10	F	9	6,60	68,5	122	< -2 et ≥ -3	Modéré
11	F	12	6,00	67,5	115	< -3 et/ou œdèmes bilatéraux	Sévère
12	F	12	5,60	64,0	120	< -2 et ≥ -3	Modéré
13	F	8	5,10	63,0	120	< -2 et ≥ -3	Modéré
14	F	15	7,00	72,5	121	< -2 et ≥ -3	Modéré
15	F	21	9,00	81,5	120	< -2 et ≥ -3	Modéré

Pour les 15 enfants, pris pour la récupération avec le plumpy-nut les poids varient entre 3,40 kg et 9,00 kg. Ces poids sont inférieurs aussi aux poids normaux de croissance des enfants par rapport à leurs âges. Le tableau VIII nous montre que parmi les enfants, 10 sont MAM et 2 sont MAS.

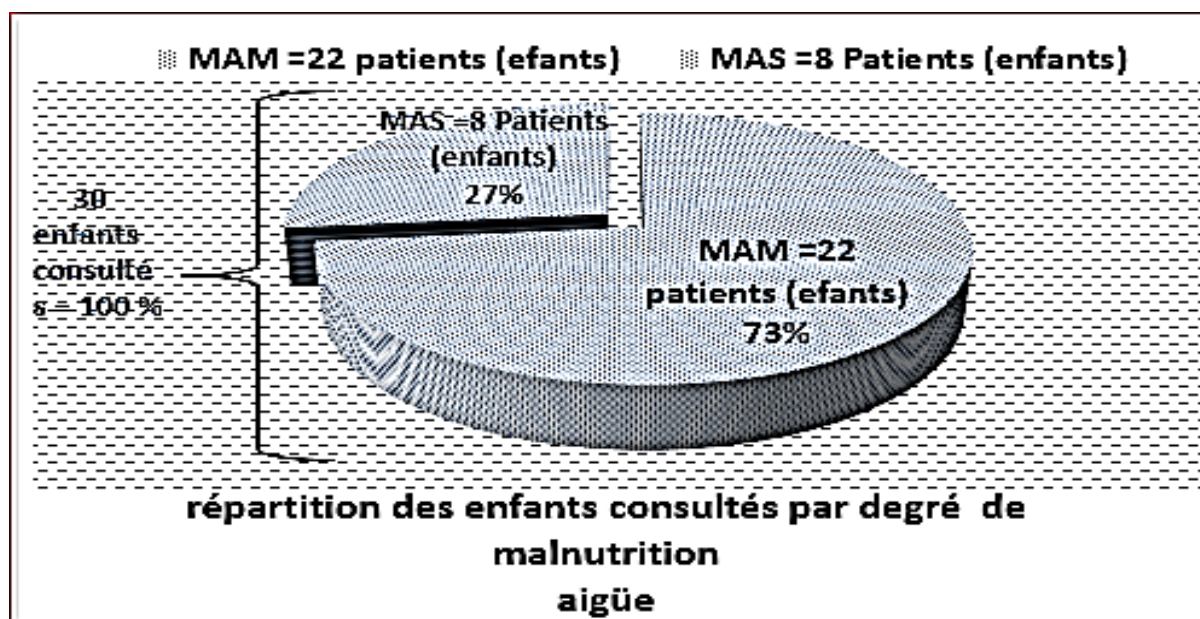


Figure 3 : Répartition des enfants par degré de malnutrition aiguë

Parmi les 30 enfants consultés au CSI, 22 enfants sont qualifiés de malnutries aigües modérés et correspondent à 73%. 8 enfants sont malnutries aigües sévères et correspondent à un taux de 27%. Ces résultats montrent qu'il y'a plus de malnutries aigües modérés que de malnutries aigües sévères dans la récupération nutritionnelle.

Les paramètres anthropométriques de suivi nutritionnel pour deux semaines de consultation.

Après la formation des femmes, un rendez-vous est donné aux femmes pour une semaine et les paramètres anthropométriques sont mesurés à la 1^{ère} et 2^{ème} semaine de consultation.

Les résultats sont présentés dans le tableau **IX**.

Tableau IX : Paramètres de surveillance nutritionnelle pour les volontaires au traitement à base de la farine.

Fiche des paramètres anthropométriques pour deux consultations nutritionnelles successives : cas des volontaires pour la ration à base de la farine fabriquée (CSS+)										
1^{er} semaine de récupération nutritionnelle							2^{ème} semaine de récupération nutritionnelle			
N°	N° Sexe M/F	Age (mois)	Poids (kg)	PB Mm	Poids/Taille (Z-score)	Statut (sévère/modéré) Guéri	Poids (kg)	PB mm	P/T (Z-score)	Guéri (oui/non)
1	N°1 M	16	7,50	124	< -2 et ≥ -3	Modéré	7,95	125		Oui
2	N°2 F	24	8,00	116	< -3 et/ou Œdèmes bilatéraux	sévère	8,50	120	< -2 et ≥ -3	Non
3	N°3 M	12	6,50	123	< -2 et ≥ -3	Modéré	6,90	125	> -2	Oui
4	N°4 M	10	6,56	124	< -2 et ≥ -3	Modéré	7,10	125	> -2	Oui
5	N°5 F	12	6,60	125	< -2 et ≥ -3	Modéré	7,00	130	> -2	Oui
6	N°6 F	24	5,40	124	< -2 et ≥ -3	Modéré	5,80	120	> -2	Oui
7	N°7 F	18	7,40	125	= -2	Guéri	7,60	125	> -2	Oui
8	N°8 F	14	6,40	120	< -2 et ≥ -3	Modéré	6,90	125	> -2	Oui
9	N°9 F	8	4,60	124	< -2 et ≥ -3	Modéré	4,80	125	> -2	Oui
10	N°10 F	12	4,70	115	< -3 et/ou Œdèmes bilatéraux	sévère	5,50	110	≤ -3	Non
11	N°11 M	8	6,80	120	< -2 et ≥ -3	Modéré	7,20	120	< -2 et ≥ -3	Non
12	N°12 M	13	8,00	123	< -2 et ≥ -3	Modéré	8,20	125	> -2	Oui
13	N°13 F	8	6,40	124	< -2 et ≥ -3	Modéré	6,60	125	> -2	Oui
14	N°14 F	12	7,20	122	< -2 et ≥ -3	Modéré	7,80	125	> -2	Oui
15	N°15 F	11	5,80	125	< -2 et ≥ -3	Modéré	6,20	130	> -2	Oui

Au début de la récupération nutritionnelle à base de la farine enrichie, les poids varient entre 3,00 et 7,60 Kg : **Tableau VII**. Après les 14 jours de prise en charge nutritionnelle, les poids ont évolué et varient entre 4,80 et 8,50 Kg (poids des enfants N°2 et N°9) : **Tableau IX**.

Ces paramètres montrent une amélioration du point nutritionnelle

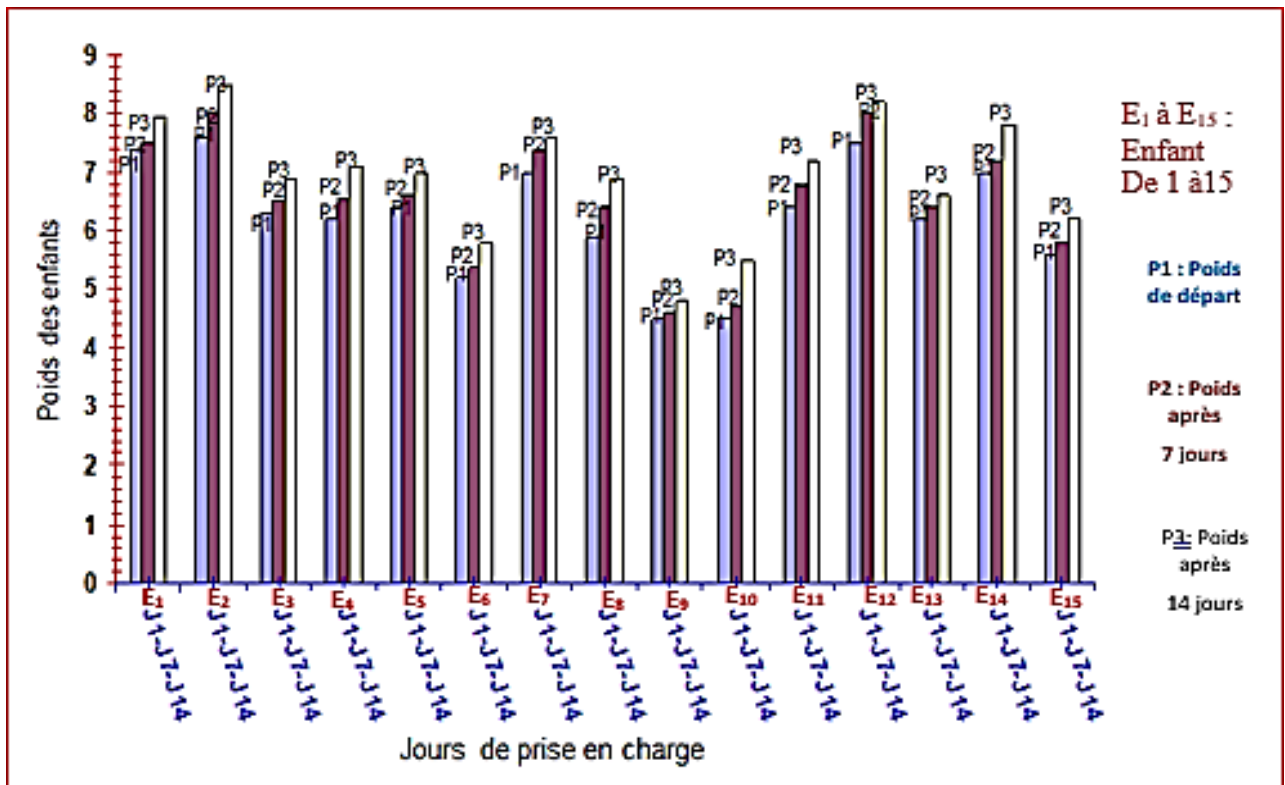


Figure 4 : l'évolution du poids en fonction du temps : Cas des enfants pris en charges à base de la farine infantile.

Pour la prise en charge nutritionnelle à base de la farine, la figure 8 nous montre l'augmentation des poids des enfants en fonction du temps.

Le poids P1 correspond au poids de départ pour la première consultation nutritionnelle des enfants récupérés au CREN.

J1 est le premier jour de consultation nutritionnelle et mesure de l'état nutritionnel.

Les poids évoluent en fonction du temps, après 7 jours (J7) de récupération nutritionnelle, pour tout âge confondu, les poids augmentent de P1 à P2 et après 14 jours (J14) de récupération, les poids P2 des enfants augmentent à P3.

Nous constatons une augmentation nette entre les poids de départs et ceux mesurés après les 14 jours de récupération.

Ces différences sur l'indicateur (Poids des enfants) montrent une efficacité thérapeutique considérable de la farine vis-à-vis de la malnutrition aiguë, dans la récupération nutritionnelle des enfants.

Tableau X : Paramètres de surveillance nutritionnelle pour les volontaires au traitement à base d'autre ATPE (plumpy-nut).

Fiche de suivi des paramètres anthropométriques pour deux consultations nutritionnelles successives : cas des enfants pris en charge avec l'ATPE (plumpy-nut)										
1^{ère} semaine de récupération nutritionnelle						2^{ème} semaine de récupération nutritionnelle				
N°	Sexe M/F	Age mois	Poids (kg)	PB Mm	Poids /Taille (Z-score)	Statut (sévère/modéré) ou guéri	Poids (kg)	PB Mm	P/T Z-score	Guéri Oui /Non
1	M	10	6,50	120	< -2 et ≥ -3	modéré)	7,00	125	> -2	Oui
2	M	8	5,60	115	< -2 et ≥ -3	modéré)	5,80	120	> -2	Oui
3	F	12	5,90	115	< -2 et ≥ -3	modéré)	6,20	120	> -2	Oui
4	M	14	7,10	110	< -3 et/ou Œdèmes bilatéraux	Sévère	7,40	120	> -2	Oui
5	M	16	6,56	120	< -2 et ≥ -3	modéré)	6,90	120	< -2	Non
6	F	6	5,40	115	< -2	Guéri	5,70	120	> -2	Oui
7	M	10	3,50	120	< -2 et ≥ -3	modéré	3,80	125	> -2	Oui
8	M	15	7,00	115	< -3 et/ou Œdèmes bilatéraux	sévère	7,40	118	< -2	Non
9	F	11	6,10	115	< -2 et ≥ -3	modéré	6,60	120	> -2	Oui
10	F	9	6,80	125	< -2 et ≥ -3	modéré	7,00	125	> -2	Oui
11	F	12	6,50	115	< -2 et ≥ -3	modéré	6,90	120	> -2	Oui
12	F	12	5,70	120	> -2	Guéri	6,00	125	> -2	Oui
13	F	8	5,60	125	> -2	Guéri	6,00	130	> -2	Oui
14	F	15	7,30	115	< -2 et ≥ -3	modéré	7,70	120	> -2	Oui
15	F	21	9,20	125	> -2	Guéri	9,60	130	> -2	Oui

Au début de la récupération nutritionnelle à base du plumpy-nut, les poids varient entre 3,40 et 9,20 Kg : **Tableau VIII**.

Après les 14 jours de prise en charge nutritionnelle, les poids ont évolué et varient entre 3,80 et 9,60 Kg (enfant N°7 et N°15) : **Tableau X**.

Ces différences sur l'indicateur (Poids des enfants) montrent aussi une amélioration considérable de l'état nutritionnel des enfants, dans la récupération nutritionnelle des enfants à base du plumpy-nut.

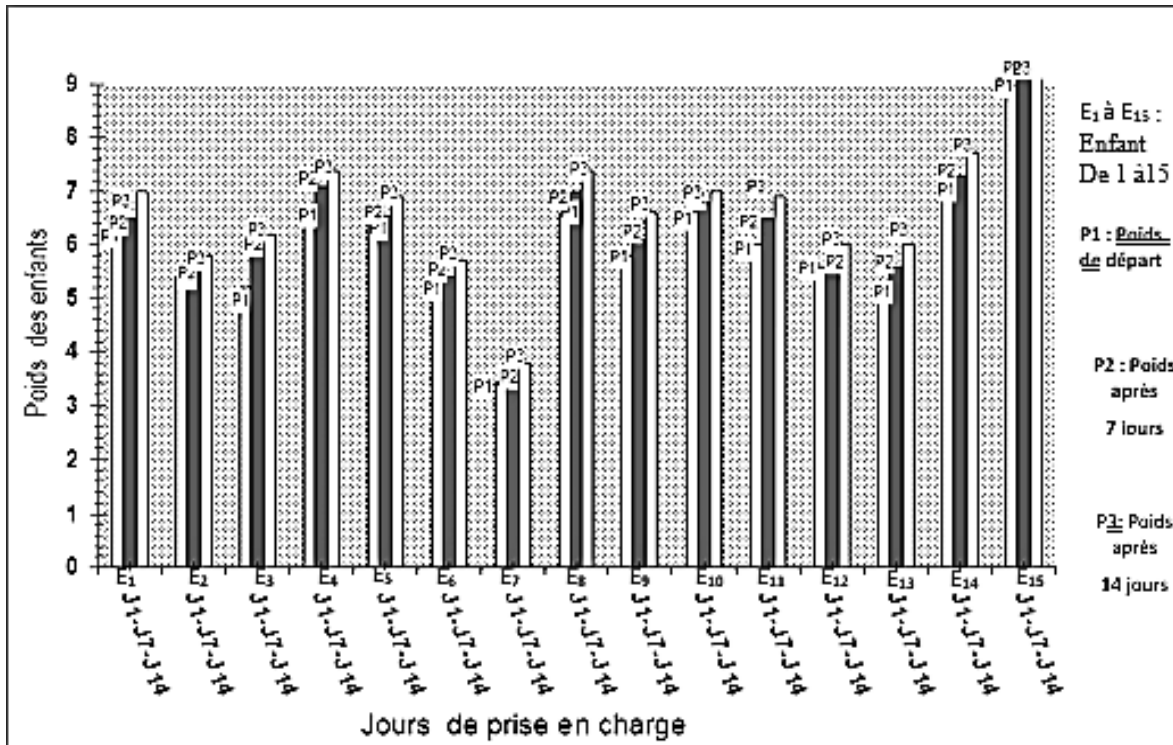


Figure 5 : l'évolution du poids en fonction du temps : Cas des enfants pris en charges à base l'ATPE (plumpy-nut).

Pour la prise en charge nutritionnelle à base du plumpy-nut la **figure 5** montre l'évolution des poids des enfants en fonction du temps. Le poids P1 correspond au poids de départ pour la première consultation nutritionnelle des enfants récupérés au CREN.

J1 est le premier jour de consultation nutritionnelle. Les poids évoluent en fonction du temps, après 7 jours (J7) de récupération nutritionnelle, pour tous âges confondus, les poids augmentent de P1 à P2 et après 14 jours (J14) de récupération, les poids P2 des enfants augmentent à P3.

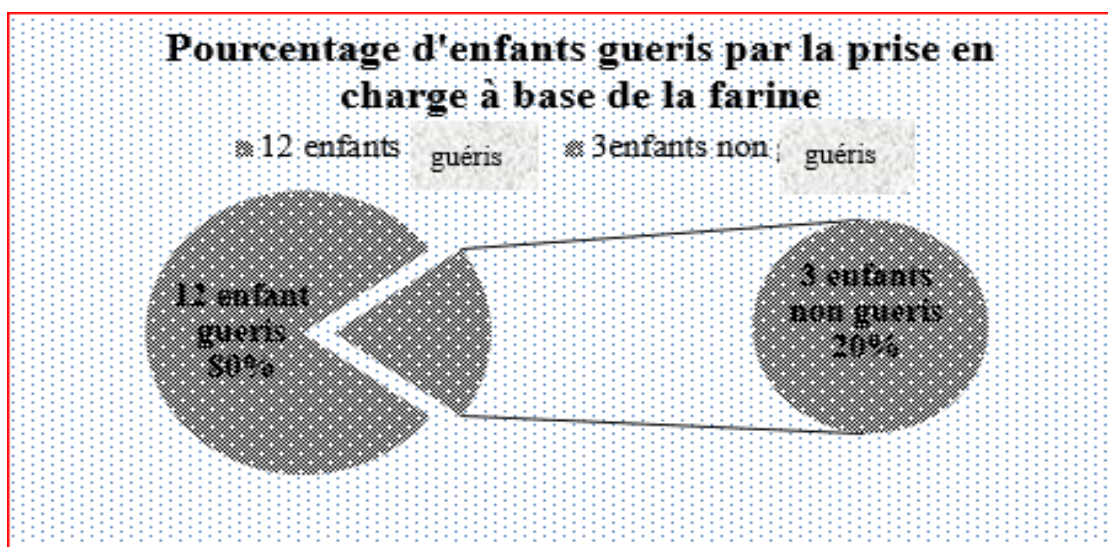


Figure 6 : Pourcentage d'enfants guéris par le traitement à base de la farine.

Pour la récupération nutritionnelle avec la farine, sur 15 enfants malnutris au départ 12 sont sortis guéris après les deux semaines de récupération nutritionnelle.

Les 12 enfants guéris représentent un taux de guérison de 80% pour la récupération avec de la farine les 3 autres non guéris dont 20% sont dus à certaines complications médicales.

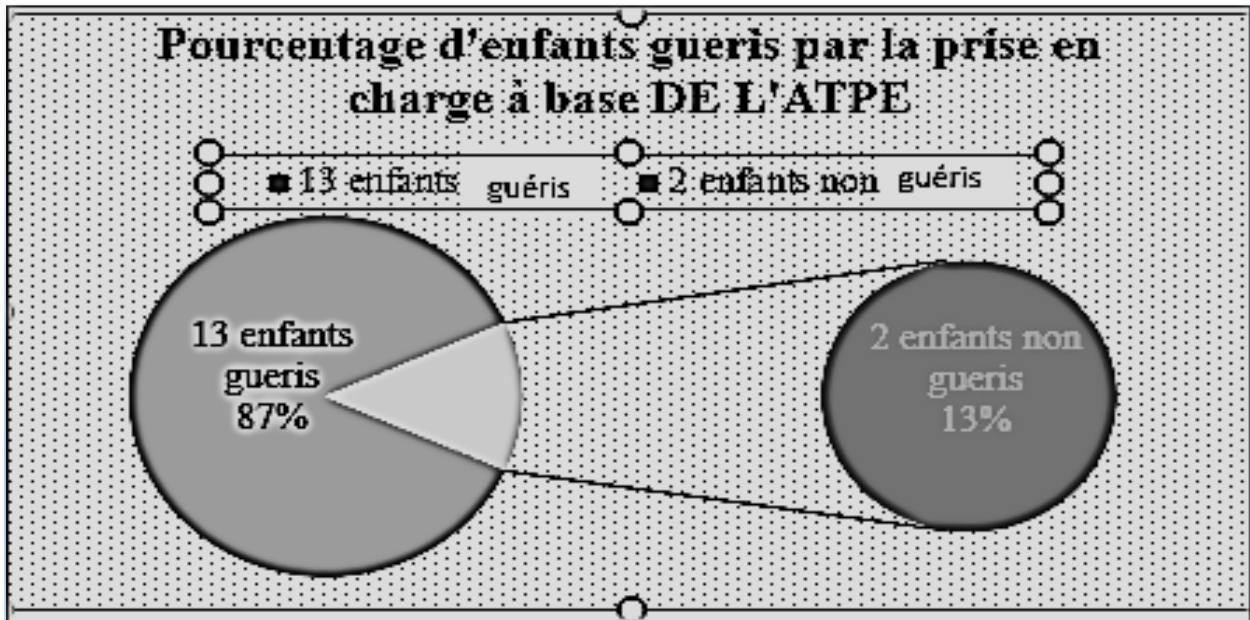


Figure 7 : Pourcentage d'enfants guéris par le traitement à base de la farine

La **figure 7** montre le taux de guérison pour la récupération avec le plumpy-nut où sur 15 récupérés, 13 sont sortis guéris après deux consultations et représentent un taux de guérison de 87% pour la récupération avec ce dernier. 2 sont restés non guéris et correspond à 13%.

Test de student portant sur la valeur moyenne d'une loi normale.

Pour la vérification de comparabilité des traitements nutritionnels, le test de comparaison de deux échantillons est utilisé à travers leurs moyennes.

Les deux échantillons (f et p) à comparer sont supposés être indépendants de même variances et de tailles respectives n_F et n_P . ddl (degré de liberté $n_1 + n_2 - 2 = 28$), au risque $\alpha = 0,05$

On admet que le gain de poids des enfants pour la prise en charge avec la farine et avec l'ATPE est distribuée dans chaque espèce suivant une loi gaussienne. et que les variances de ces deux distributions peuvent être considérer comme (même efficacités thérapeutiques). La valeur critique $t_{\frac{\alpha}{2}}$ lie dans la table de student est $t_{\frac{\alpha}{2}} = 0,73$ et $|t| = 0,33 < (t_{\frac{\alpha}{2}} = 0,73$

En conclusion nous pouvons dire que le test de student montre que les deux moyennes pour les deux types de traitement ne sont pas significativement différentes.

Ce test nous informe sur l'efficacité du traitement nutritionnel avec la nouvelle farine fabriquée et que la farine à l'instar du plumpy-nut peut être utilisée dans les préventions et traitements de la malnutrition aiguë modérée et ou sévère/sans complication dans les formations sanitaires des **CRENAM** et **CRENAS**

DISCUSSIONS

Qualités nutritionnelles de la farine

Le taux d'humidité de la farine est de 2,45%, Le taux d'humidité de la farine joue un rôle important dans sa durée de conservation et dans le goût du produit fini. Plus une farine est sèche mieux elle se conserve. Ce taux est inférieur à la norme indiquant un taux de 5% FAO/OMS, 2006, ceci est appréciable. Mais notre résultat est légèrement supérieur à celui trouvé sur la farine FARILAC à Madagascar avec une humidité de 1,5% (Trèche, 1988).

La faible teneur en humidité de la farine augmente sa durée de conservation. Ces résultats sont inférieurs à ceux d'Alozié et al. (2009) qui ont obtenu dans la farine bambara un taux d'humidité de 5% et ceux de F. N. TSHITE et al. 2015, qui ont rapporté 5,9%.

La teneur en matières sèches est de 97,55 ceci est un indicateur d'une farine énergétiquement dense. La composition pour 100g de la farine est de : 14, 19% de protéines, 8,19% de lipides, et 76,44% glucides et énergie **437,98 Kcal**. Ces résultats sont supérieurs à ceux trouvés pour la farine VITAFORT au Congo où l'analyse pour 100 g a donné : glucides 74,05 g, protéines 10,5 g, lipides 5,8 g et énergie 380 kcal (Tchibanga, 1992). Ils sont aussi supérieurs aux résultats trouvés sur la farine FARILAC, à Madagascar par Trèche, 1988 : En termes de protéines 13 g, graisses 7,6 g, humidité 1,5g et 425 Kcal pour 100 g, mais les teneurs en glucides et cendres sont légèrement supérieurs à nos résultats trouvés, 100g de farine FARILAC contient en moyen 78,5g, cendre 2,1g contre 1,26 g de cendre et 76,44g de glucides.

Les apports nutritionnels de la farine CSS+ sont appréciables par rapport à la farine de référence FAO/OMS (2006) : protéine 15g, lipide 8g, glucide 68g. En plus, la farine renferme une valeur énergétique **437,98 Kcal** qui est supérieure à la valeur moyenne de FAO/OMS, 2006 : 400 Kcal. Le résultat est aussi supérieur à celui trouvé pour SOY-OGI (Nigeria), Wijngaart, 2005 et OMS/UNICEF, 2003 : 400 Kcal/100g et BITAMIN (Niger), Ibrahim. 1991 : 406 Kcal/100g.

L'apport protéique et l'apport calorique pour 100 g de la farine CSS+ sont similaires à ceux de la farine Misola fabriquée au Burkina Faso S. Soubeiga. 1982, où l'analyse pour 100 g a donné : 430 kcal d'énergie et 13-15 g de protéines.

Qualité sensorielle de la farine

Rappelons qu'une bouillie est préparée pour que les mères le fassent goûter à leurs enfants.

Ces dernières nous ont répondu sur comment l'enfant a-t-il trouvé la bouillie selon leur impression.

Ainsi nous avons trouvé que :60% des mères, selon leurs impressions ont jugé la farine d'agréable 20% des mères, selon leurs impressions ont jugé la farine d'assez agréable,13% des mères, selon leurs impressions ont jugé la farine de ni agréable et ni désagréable, 7% des mères, selon leurs impressions ont jugé la farine d'assez désagréable. Au total, 80% des mères ont donné une réponse favorable aux préférences de leurs enfants avec la bouillie préparée à base de la farine CSS+.

Pour le test de contrôle sensoriel, la majorité des sujets intervenus se sont penchés vers les caractères organoleptiques suivant :

Couleur jaune verdâtre, texture homogène, saveur sucrée, arôme soja-spiruline. Il faut noter que le soja a une odeur au voisinage du poisson séché, cette odeur de la spiruline combinée au soja est à l'origine de l'arôme complexe soja-spiruline.

Efficacité thérapeutique de la farine

Pour la récupération nutritionnelle avec la farine, sur 15 enfants malnutris au départ 12 sont sortis guéris après les deux semaines de récupération nutritionnelle. Les 12 enfants guéris représentent un taux de guérison de 80% pour la récupération avec de la farine les 3 autres non guéris dont 20% sont dus à certaines complications médicales. Pour ceux récupérés avec l'ATPE sur 15 enfants, 13 sont sortis guéris après deux consultations et représentent un taux de guérison de 87% pour la récupération avec du plumpy-nut. Ces résultats sont similaires à l'étude faite par : Kamian, 2009 dans une récupération nutritionnelle aux malis à base d'une farine enrichie à la spiruline dont sur 57 enfants récupérés 51 sont sortis guéris à la fin.

Les enfants qui sont rentés avec des P/T <-2 et ≥ -3 et PB ≥ 115 et <125 mm, qualifiés de MAM (Malnutrition aigüe modérés) sont sorties guéries avec les P/T >-2 Ces résultats sont similaires à ceux de Kamian, 2009 où le maximum de la courbe est enregistré à -1 Z-score à la fin d'étude alors qu'au départ, il se situait à -3 Z scores.

La moyenne de gain de poids de 8,24 g/j correspond à 115,36 g par semaine par le traitement avec la farine. Avec le plumpy-nut, le gain de poids est de 8,02 g/j correspondant à 112 ,28 g par semaine de récupération. Ces résultats sont supérieurs aux résultats trouvés lors d'un essai de réhabilitation nutritionnelle avec de la spiruline dans un CHU à Dakar à propos de 59 cas qui ont apporté un gain moyen en poids de 7,64 grammes/jour (Dankoko, et al. 1999). Nos résultats sont inférieurs à ceux de Kadiatou, 2009 soit 136 grammes par semaine, et ceux de Bucaille, 1990 qui avait obtenu 195 grammes par semaine pour une dose de 10 grammes de spiruline par jour.

CONCLUSION

L'objectif de notre étude était d'étudier l'efficacité de la farine enrichie à la spiruline et

plumpy-nut de plumpy-nut dans l'amélioration de l'état nutritionnel d'enfants atteints de malnutrition aiguë.

La réhabilitation nutritionnelle à base de la farine des enfants malnutris nous a permis de confirmer l'efficacité de la farine en tant que farine de sevrage nutritive. Elle accélère le passage des enfants souffrant d'émaciation sévère, et aussi d'insuffisance pondérale sévère à un stade modéré et ceux modérés à un stade sain. L'utilisation de la spiruline pour la réhabilitation nutritionnelle pourrait constituer une alternative efficace dans les programmes de lutte contre la Malnutrition Protéino-Energétique dans nos pays.

Notre recherche d'intervention clinique par le test de la farine serait d'une avancée sur l'échiquier de la recherche scientifique et une importance capitale dans l'amélioration de la qualité des denrées locales d'ont la mère elle-même peut préparer à domicile pour son enfant et garantir à son bébé un bon sevrage. La grande partie des farines de sevrage fournis au CREN ou vendues au marché sont faites à base d'un complexe céréales-légumineuses ou céréales-lait, cette étude a montré que le complexe céréale-légumineuses-spiruline est aussi très capitale et très nutritive du point de vue nutritionnelle. Dans l'avenir, il nous reste à confirmer la dose efficiente de la spiruline à utiliser, sa disponibilité et sa compétitivité par rapport aux protéines animales.

Evaluer le coût d'opportunité de renutrition avec la farine enrichie au soja et la spiruline par rapport aux renutrition classiques.

Améliorer la qualité de la farine CSS+ du point de vue nutritionnel et augmenter la production de la farine à grande échelle pour la récupération nutritionnelle.

Pousser les recherches en améliorant les vertus de farine CSS+ par les analyses biochimiques et microbiologiques pour garantir une inoculé totale de la farine.

Etudier la biodisponibilité de la farine en Fer, vitamine A, vitamine C, Zinc.

Déterminer sa composition en acide aminé.

Elaborer des nouvelles formules de farine et aliments thérapeutiques dans un contexte de valorisation des denrées alimentaires.

BIBLIOGRAPHIE

- André B. 1985**, Prédiction et traitement de malnutrition. Guide pratique, éditions de l'ORSTOM. Institut français de recherche scientifique pour le développement en coopération avec le concours de (l'Organisme de Recherche sur l'alimentation et la Nutrition Africaine) Paris. ORSTOM, 149 P.
- Bucaille P. 1990**. Intérêt et efficacité de l'algue spiruline dans l'alimentation des enfants présentant une malnutrition protéino-énergétique en milieu tropical (à propos de 28 observations). Thèse de Doctorat en Médecine, Université Paul Sabatier de Toulouse III, France, 106 P.
- Charpy L. et al. 2008**. La Spiruline peut-elle être un atout pour la santé et le développement en Afrique agriculture.gouv.fr/sections/.../études/spiruline-peut-telle être1808/.../ Spiruline_synthese%20et%20compilation_DGPAAT_2008.p
- Dankoko. B, et al. 1999**. Résultats d'un essai de réhabilitation nutritionnelle avec la spiruline à Dakar. A propos de 59 cas, Médecine d'Afrique Noire, 46 P.
Disponible sur : <http://donnees.banquemondiale.org/indicateur/SH.STA.MALN.ZS>
- Elodie L. 2013**. Le soja influence de sa consommation sur la santé et conséquences de l'expansion de sa culture au niveau mondial, THESE Pharmacie, Faculté des sciences Pharmaceutiques, Université de Toulouse III Paul SABATIER, 91 P.
en agroalimentaire TPA N°15.Paris: Dumas, juin, 48 P.
- Fatoumata MT. 2014**. Aspects épidémiocliniques de la malnutrition aiguë sévère des enfants de moins de 5 ans au CHU GABRIEL TOURE. Thèse de médecine. Faculté de Médecine et d'odontostomatologie : Université des sciences techniques et de la technologie de Bamako, 85
- Feinberg, et al. 1993**. Alimentation et nutrition humaine. Tables de composition des aliments. Réalisation, utilisation, limites. Centre informatique sur la qualité de l'aliment (CIQUAL), N°36916.P 1412-1438.
- Haoua H, Alfa K. et al. 2019**. Nutritional quality and recovery test based on weaning flour enriched with cucurbita pepo seed in Niger January, pp.4435-4439.
- Hoopen et Maïga, 2013**. Production et transformation du maïs, édition Pro-Agro, ISF Cameroun-BP 7105. 29 P.
- Hug C & von der Weid D. 2011**. La spiruline dans la lutte contre la malnutrition. FONDATION ANTENNA TECHNOLOGIES. Geneva (Switzerland), 30 P.
- INS, 2020**. Evaluation nationale de la situation nutritionnelle par la méthodologie Smart au Niger : INS-NIGER, 98P.
- Kadiatou K. 2009**. Efficacité de la spiruline et poisson et des farines infantiles dans la récupération nutritionnelle et l'anémie chez les enfants à sabalibougou. Thèse de doctorat : faculté de médecine, de pharmacie et d'Odontostomatologie, Mali, 141 P.
- Lalaina AH. 1995-2000**. Essai de fabrication de farine infantile instantanée à moyenne échelle. Mémoire de fin d'étude d'ingénieur agronome, école supérieure des sciences agronomiques : Université d'Antananarivo, 79 P.
- Musimwa M. 2017**. Malnutrition chez l'enfant de moins de 5 ans à Lubumbashi et aux environs. Approche épidémioclinique et biochimique dans un milieu minier. Thèse de doctorat. Faculté de médecine département de pédiatrie B.P. 1825 : université de Lubumbashi, 22 juillet, 188 p.
- OMS (2004)**. Base de données mondiale sur la croissance et la malnutrition des enfants
- OMS, 2001**. La prise en charge de la malnutrition sévère : manuel à l'usage des médecins et autres personnels de santé à des postes d'encadrement. Genève.
- OMS, 2003**. (Stratégie mondiale pour l'alimentation du nourrisson et du jeune enfant Genève. Document électronique ; www.who.int/nutrition/publications/gi_infant_feeding_text_fre.pdf
- OMS, 2015**. Base de données mondiale sur la croissance et la malnutrition des enfants **Chevassus-Agnès S. 1999**. Aperçus nutritionnels par pays de la FAO : Le Niger, FNA/ANA 25, 1999, 57 P.
- Oumarou A. et al. 2014**. Les collectivités territoriales et le service de santé au Niger une analyse à partir des communes de Dosso, Tibiri, Kargui-Bangou et Liboré. Etudes et travaux du lasdel N°122. 50 P.
PNPCM. Juin 2016. Protocole national de prise en charge de la malnutrition, Ministère de la santé publique, 119P.
- Saskia VG, Annoek V. den W. 2005**. La production artisanale d'aliments de complément. Agrodok 222nd Ed. Digigrafi, Wageningen, Pays-Bas : Fondation Agromisa, Wageninge. 88 P.
- Sébastien S. 2008**. Spirulina platensis et ses constituants intérêts nutritionnels et activités thérapeutiques THESE Pharmacie. Faculté de pharmacie : UNIVERSITE Henri Poincaré - Nancy 1,162 P.
- Tchimbinga, 1992**. VITAFOR, Farine infantile de haute densité énergétique au Congo, Unité de recherche sur la Nutrition et alimentation Humaine, Congo, P 178-188.
- Traiche S. et al. 1994**. L'alimentation de complément du jeune enfant. Université Senghor novembre 1994.79 P.
- Trèche S. 1998**. Les farines infantiles. Bulletin du réseau Technologie et partenariat
- Vicente N. 2012**. La spiruline pour la nutrition et la sante, 4 P.

Evaluation de l'effet fongicide d'une formulation à base d'extrait de *Cymbopogon citratus*, contre la maladie du charbon de la canne à sucre causée par *Sporisorium scitamineum* en culture de repousse

KOUAME Konan Didier¹, YAO Kouadio Jacques-Edouard^{1&2}, KASSI Koffi Jean Martial¹, KOUAME K Gaston³, BLE-BINATE Nozéné⁴, N'GUESSAN AYA Carine³, KONE Daouda^{1&2}

¹Université Felix Houphouët Boigny, UFR Biosciences, Laboratoire d'Agrophysiologie et Phytopathologie 22
B.P.582 Abidjan 22,

²Centre d'Excellence Africain sur les Changements climatiques, la Biodiversité et l'Agriculture durable (CEA-
CCBAD),

³Université Péléforo Gon Coulibaly de Korhogo, UFR des Sciences Biologiques, BP 1328 Korhogo-Cote d'Ivoire

⁴Sucrivoire, Unité Agricole Intégré de Borotou-Koro, B.P.100 Borotou Koro

*Correspondance : didykonan@yahoo.fr

Résumé :

La canne à sucre contribue à 80% dans la production mondiale de sucre. Cependant, en Côte d'Ivoire la maladie de charbon causée par *Sporisorium scitamineum* provoque des pertes de 10 à 30% de la production. Cette étude vise à évaluer l'effet d'une formulation à base d'extrait de *Cymbopogon citratus*, contre la maladie du charbon de la canne à sucre causée. L'étude a été conduite sur une parcelle du complexe sucrier de Borotou-Koro en Côte d'Ivoire, sur la variété NCo376 en repousse. Les formulations à base de *Cymbopogon citratus* ont été appliquées à la dose de 300 l/ha à l'aide d'un pulvérisateur. Trois applications ont été réalisées : 15^e j après la récolte (APR), 30^e JAR et deux traitements successifs, au 15^e JAP et 30^e JAR avec les doses de 1500ppm et 2500ppm. Les deux doses se sont montrées efficace en une seule application (15j et 30j), réduisant fortement l'incidence de la maladie du charbon à 7,70% et 8,19% respectivement. Cette formulation a amélioré les rendements en canne oscillant entre 80,45 et 90,70 t/ha. La formulation se présente donc comme une alternative durable aux produits chimiques de synthèse pour la lutte contre la maladie du charbon.

Mots Clés : Canne à sucre, *Sporisorium Scitamineum*, *Cymbopogon citratus* ; Bio-pesticide

Evaluation of the fungicidal effect of a formulation based on *Cymbopogon citratus* extract against the sugarcane smut disease caused by *Sporisorium scitamineum* in regrowth culture

Abstract

Sugar cane contributes to 80% of the world's sugar production. However, in Côte d'Ivoire, the smut disease caused by *Sporisorium scitamineum* causes losses of 10 to 30% of the production. This study aims to evaluate the effect of a formulation based on *Cymbopogon citratus* extract, against the sugarcane smut disease caused by *Sporisorium scitamineum*. The study was conducted on a plot of the Borotou-

Koro sugar complex in Côte d'Ivoire, on the NCo376 variety in regrowth. *Cymbopogon citratus*-based formulations were applied at a rate of 300 l/ha using a sprayer. Three applications were made: 15th d after harvest (APR), 30th DAR and two successive treatments, at 15th DAP and 30th DAR with the doses of 1500ppm and 2500ppm. Both doses were effective in a single application (15d and 30d), strongly reducing the incidence of smut disease to 7.70% and 8.19% respectively. This formulation improved cane yields ranging from 80.45 to 90.70 t/ha. The formulation is therefore a sustainable alternative to synthetic chemicals for the control of smut.

Sugarcane, *Sporisorium Scitamineum*, *Cymbopogon citratus*; Bio-pesticide

1. Introduction

La maladie du charbon de la canne à sucre est causée par un champignon appartenant la famille des Basidiomycètes, nommé *Sporisorium scitamineum* [1]. Ce pathogène sévit en Afrique depuis 1877 en provenance du Natal et s'est répandu dans toutes les zones de production de la canne à sucre à partir des années 70 [2]. L'incidence de cette maladie est à la fois perceptible sur le rendement en canne dont la réduction peut varier de 30 à 50 % et aussi la perte de la qualité du jus [3 ;4]. Ainsi plusieurs variétés très prisées ont été retirées des plantations du faite de leur forte sensibilité à la maladie du charbon [5]. En Côte d'Ivoire, la maladie est présente dans les zones de production et provoque des pertes importantes de la production [6]. *Sporisorium scitamineum* peut donner des téliospores diploïdes qui disséminent par le vent et l'eau de la pluie et de l'irrigation. Ainsi au contact de la canne à sucre, ces téliospores germent rapidement quand les conditions d'humidité et de température sont favorables [7]. Le mycélium infectieux se développe dans la plante de façon systémique en s'installant préférentiellement dans chacun des méristèmes latéraux formés perturbant ainsi l'allongement des tiges qui produisent alors des entre-nœuds courts, un fort tallage et la mort des plants après apparition du fouet charbonneux [8]. Les méthodes de lutte sont essentiellement orientées vers l'usage direct des fongicides de synthèses, parmi lesquels figurent le bénomyl, le carbendazime, le mancozèbe, le chlorothalonil, le propiconazole et le captan [9]. De plus, ces fongicides sont également associés aux traitements thermothérapies pour la sanitation des boutures [10]. Cependant, ces produits sont onéreux, cancérigènes avec des impacts négatifs sur la biodiversité [11] [12]. Dès lors, la recherche de solutions alternatives de lutte, efficace et à faible coût, sans aucun risque pour les utilisateurs et protectrice de l'environnement s'impose. L'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* est soupçonnée d'avoir des propriétés antifongiques [13]. L'objectif de cette étude est d'évaluer la réponse à la maladie du charbon des repousses de canne à sucre traitées avec une formulation à base de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* afin de proposer aux producteurs une alternative durable à l'utilisation des pesticides chimiques.

2. Matériel et méthodes

2.1. Zone d'étude

L'étude a été réalisée en plein champ sur le site du complexe sucrier de Borotou-Koro de la société SUCRIVOIRE au nord de la Côte d'Ivoire. Les essais ont été mis en place sur Pivot 5, localisé à N 08 29 919' et de latitude nord et W 007 15 969' de longitude ouest.

2.2. Mise en place du dispositif expérimental

Les essais ont été conduits sur une surface de 6300 m² avec une longueur de 100 mètres et une largeur de 63 mètres. La parcelle a été subdivisée en quatre blocs espacés de 5 mètres ; chaque bloc comportait 8 microparcelles rectangulaires de 120m². Chaque microparcelle était constituée de 8 lignes de canne et les 6 lignes centrales ont été évaluées. Tous les facteurs de production que sont la préparation du terrain, l'irrigation, l'apport de fumure, le sarclage ont été maintenus uniformes afin de mettre en évidence de l'effet du produit.

2.3. Préparation du fongicide naturel à base d'huile essentielle

L'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* a été obtenue à partir des feuilles fraîches, par entraînement à la vapeur d'eau saturée réalisé avec le dispositif de type Clevenger pendant 2 h [14]. Cette méthode consiste en une distillation classique dans laquelle les feuilles ne sont pas en contact direct avec l'eau. Ces feuilles sont disposées sur une grille et traversées par un courant de vapeur d'eau. Lors du passage de la vapeur, les cellules des feuilles libèrent l'huile essentielle qui est entraînée vers le condenseur puis, l'essencier. La séparation se fait par décantation. L'huile essentielle obtenue a constitué la matière active dans le fongicide naturel. Pour ce faire, un élément fixateur (huile minérale) à raison de 5% du volume total de la formulation et un émulsifiant (1%) ont été ajoutés à l'huile essentielle. Le fongicide naturel a été évalué aux doses de 1500 et 2500 ppm pour un volume de 300l/ha d'où 3,6 litres par microparcelle de 120m².

2.4. Applications

Les applications selon la méthodologie décrite par [15] avec une légère modification. Trois applications ont été réalisées : à 15 jours après la récolte de la canne (T1), à 30 jours après la récolte de la canne (T2) et les deux temps à la fois (T3). Les doses de 1500 ppm et 2500 ppm évaluées à raison de 300l/ha. Au total, huit traitements combinant doses et le temps d'application ont été testés. La buse des pulvérisateurs a été réglée à un jet de 7,03 ml d'eau par seconde et une vitesse de marche a été définie à 0,23m/s. La pulvérisation a été faite autour et sur des jeunes repousses de canne à sucre de la variété NCo376 en condition d'infestation naturelle et d'autres non traités ont servi de témoin.

2.4. Collecte de données

2.4.1. Évaluation des paramètres de croissance

Le tallage et la hauteur ont été évalués sur les 6 lignes utiles de chaque microparcelle. Douze souches ont été choisies de manière aléatoire sur les six lignes utiles puis marquées. Sur ces souches marquées, la hauteur de douze plants a été mesurée à l'aide d'un ruban maître du collet jusqu'à la base V formée

par les dernières feuilles sur dix plants. Au 3^e et 5^e mois, le nombre de tiges par souche a été déterminé par comptage. Ensuite, après du brûlage précédent la récolte, le nombre de tiges de canne ont été systématiquement comptés sur les lignes utiles. Le nombre de tiges à l'hectare a été déterminé selon la formule suivante :

$$\text{Tige/ha} = \frac{\text{nombre total de tiges} \times 6667}{\text{nombre de lignes utile} * \text{longueur d'1 ligne}}$$

2.4.2. Évaluation du rendement en canne

Les essais ont été conduits pendant 12 mois ce qui correspond à la durée normale du cycle de culture annuel de la canne à sucre. Les lignes utiles ont été coupées manuellement et la masse des cannes a été déterminée à l'aide d'un peson suspendu au crochet d'une chargeuse mécanique. Le rendement a été calculé en tonne de cannes par hectare, en divisant la production par la superficie utile de chaque parcelle élémentaire correspondante selon la formule suivante :

$$\text{Rendement} = \frac{\text{Masse sur la superficie utile} \times 10000}{\text{superficie utile}}$$

2.4.3. Évaluation phytosanitaire

2.4.3.1. Incidences de la maladie du charbon

L'incidence de la maladie du charbon a été évaluée sur les 6 lignes utiles de chaque microparcelle. Douze souches ont été choisies de manière aléatoire sur les six lignes utiles puis marquées. Le nombre de tiges attaquées par souche ainsi que le nombre de tiges total ont été déterminés par comptage au 3^e et 5^e mois. L'incidence a donc été calculée en faisant le rapport du nombre de plants malade par souches sur le nombre de tiges total par souche [16].

2.4.3.2. Nombre de fouets à l'hectare et gain de tiges

Les fouets charbonneux ont été comptés sur les 6 lignes utiles de chaque microparcelle. Ensuite, le nombre de fouets a été ramené à l'hectare selon la formule suivante [17] :

$$\text{Nombre de fouets/ha} = \frac{\text{nombre total de fouets} \times 6667}{\text{nombre de lignes utile} * \text{longueur d'1 ligne}}$$

Le gain en tige a été obtenu en faisant la différence entre le nombre de fouets charbonneux issus des traitements et celui obtenu chez les témoins.

2.5. Évaluation des qualités technologiques

Un échantillon primaire de 30 cannes prélevées quelques instants après la coupe. L'échantillon a été broyé dans un broyeur Jeffco. Ensuite, 500 g de pulpe de canne ont été introduits dans un cylindre en acier inoxydable rainuré et perforé. Une pression a été exercée à l'aide du piston de la presse, jusqu'à la stabilisation du manomètre à 100 bars pendant 1 min. Le jus de canne extrait a été recueilli dans un bécher. Le Brix a été obtenu par dépôt de quelques gouttes du jus sur le prisme de mesure du

réfractomètre à raison de trois lectures à 20 °C par traitement [18]. Le Pol du jus de canne a été également déterminé en faisant une lecture au saccharimètre soit trois lectures du Pol et la moyenne a été adoptée comme lecture polarimétrie. La table de Schmidt relative au saccharimètre de 26 g a permis de déterminer le Pol du jus en multipliant le facteur Pol, correspondant à la valeur du Brix, par la valeur du Pol lu au polarimètre. La pureté d'un échantillon a été calculée par la formule suivante :

$$Pureté = \left(\frac{Pol\ jus}{Brix} \right) * 100$$

La richesse saccharine a été déterminée en multipliant le Pol du jus de canne par un facteur n lu sur une table à partir du poids du gâteau des 500 g de pulpe :

$$Pol\ \% canne = Facteur\ n \times Pol\ jus * 100$$

2.5.1. Détermination du taux de sucre extractible (SE %)

Le taux de sucre extractible (SE %) est définie par une formule prenant en compte de la richesse en saccharose, du taux de fibre dans la canne et de la pureté du jus de canne [18] :

$$SE\% = [(0,85 \times Pol\ \% C) (1,6 - 60/Pureté) - (0,05 \times Fibre\ \% C)]$$

2.5.2. Rendement en sucre extractible (TSE/ha)

Le rendement en sucre extractible (TSE) a été obtenu (t/ha) en multipliant la valeur du taux de sucre extractible par le rendement en canne (t/ha) selon l'expression suivante :

$$TSE/ha = (SE\ \% * Rendements\ en\ canne) / 100$$

2.6. Analyse des données

Une analyse de variance a été appliquée aux paramètres mesurés et la comparaison des moyennes a été effectuée selon le test de Newman-Keuls (test post-hoc ANOVA) au seuil de signification de 5 % à l'aide du logiciel STATISTICA 7.1

3. Résultats et discussion

3.1. Paramètres agromorphologiques

3.1.1. Effets sur le nombre de plants par souche de canne à sucre

Le nombre de tiges de canne pour la formulation à base d'huile de *Cymbopogon citratus* est consigné dans le **Tableau I**. Le test de comparaison de moyenne de Student Newman-Keuls au seuil de 5 % a révélé un effet dose significatif entre les traitements pour le tallage des plants. Le nombre de tiges de canne a été très important au 3^e mois chez les plants ayant reçu les traitements T1C2 (application 15 jrs APR avec la dose de 2500 ppm), T1C1 (application 15 jrs APR avec la dose de 1500 ppm), TE (sans application), T2C1 (application 30 jrs APR avec la dose de 1500 ppm), T3C1 (application 15 et 30 jrs APR avec la dose de 1500 ppm). Le nombre de tiges a varié entre 30 et 35,50 tiges par souche. Par

contre, les traitements T2C2 (application 30 jrs APR avec la dose de 2500 ppm) et T3C2 (application 15 et 30 jrs APR avec la dose de 2500 ppm) ont enregistré entre 26,25 et 27,50 tiges/souche. Les évaluations ont révélé qu'au 5^e, les traitements T1C2, T2C1, T3C2 et T3C1 ont induit le nombre de tiges le plus élevé compris entre 25 et 27 tiges/souches. Par ailleurs, les plants témoin non traité et les plants traités à l'huile minérale ont obtenu un nombre de tiges moins important, avec une moyenne de 16 tiges/souche (**Tableau I**)

Tableau I : Nombres moyens de plants par souches de cannes aux stades des 3^e et 5^e mois de croissance au champ en fonction des différentes doses de formulations à base d'huile essentielle de *Cymbopogon citratus*

Traitements	Code des traitements	Nombre de plants par souche	
		3 ^e mois	au 5 ^e mois
Traitements à base d'huile essentielle <i>Cymbopogon citratus</i>	T1C2	31,75±7,32a	26,0±3,46a
	T1C1	32,25±4,90a	20,25±6,9b
	T2C2	26,25±6,13b	15,5±6,02c
	T2C1	35,50±5,19a	25,75±2,6a
	T3C2	27,50±5,00b	25,0±2,16a
	T3C1	33,75±7,80a	27,0±5,3a
Huile minérale	Banole	30,00±9,10a	19,0±3,3b
Témoin	TE	33,50±5,30a	16,25±4,5c
	<i>P</i>	0,000	0,000

Les moyennes suivies des mêmes lettres dans la même colonne ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de Student Newman-Keuls

3.1.2. Effet des traitements sur le rendement en canne à sucre

Quant aux traitements à la formulation à base de *Cymbopogon citratus*, les résultats ont montré que les traitements T1C1 (application 15 jrs APR avec la dose de 1500 ppm) et T3C1 (application 15 et 30 jrs APR avec la dose de 1500 ppm) ont induit les rendements en canne les considérables avec 85,29 et 90,70 t/ha respectivement. Par contre, le traitement T1C2, le banole et le Témoin ont obtenu de faibles rendements, et qui sont compris entre 61,95 et 68,9 t/ha. Les autres traitements T2C1 (77,45 t/ha) et T3C2 (80,45 t/ha) ont eu des rendements intermédiaires (**Tableau II**).

Tableau II : Rendement en canne (t/ha) en fonction des différentes doses de formulations à base d'huile essentielle de *Cymbopogon citratus*

Traitements	Codes	Rendement en canne (t/ha)
	T1C2	61,95 ± 5,80 b

	T1C1	85,29 ± 8,44 a
Traitements à base d'huiles essentielles	T2C2	61,29 ± 3,90 b
	T2C1	77,45 ± 0,98 ab
	T3C2	80,45 ± 0,76 ab
	T3C1	90,70 ± 2,2 a
Huile minérale	Banole	59,41 ± 1,2 0b
Témoin non traité	TE	68,9 ± 8, 55 ab
	<i>P</i>	0,000

Les moyennes suivies des mêmes lettres dans la même colonne ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de Student Newman-Keuls

3.2. Effets des traitements sur les paramètres phytosanitaires

Tous les traitements confondus à base de *Cymbopogon citratus* ont enregistré de faibles incidences de la maladie de charbon, qui sont compris entre 7,70 et 9,57 %. Par ailleurs, les plants non traités et ceux traités avec l'huile minérale ont enregistré les plus fortes incidences de la maladie du charbon avec 16,36 et 17,42 % respectivement (**Figure 1**).

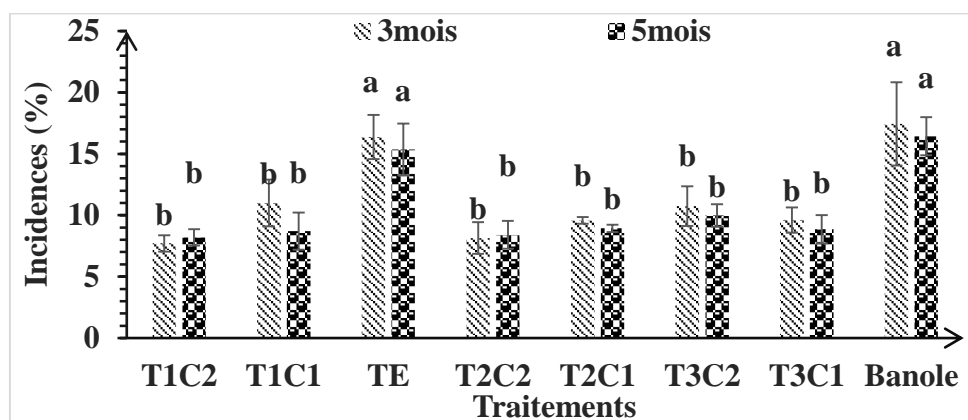


Figure 1 : Evolution de l'incidence la maladie du charbon en fonction des traitements à base d'huile essentielle *Cymbopogon citratus*

3.3. Effet des traitements sur la qualité technologique

3.3.1. Caractérisation des groupes des différents traitements avec l'huile essentielle *Zinguer officinale*

L'analyse de variance a montré qu'il n'existe pas de différences entre les moyennes la richesse saccharine, la pureté quel que soit les traitements considérés. Les moyennes saccharines ont oscillé entre 13,14 % et 13,99 % pour la richesse saccharine et entre 89,69 % et 90,72 % pour la pureté (**Tableau**

III). Par contre, des différences significatives ont été révélées au niveau du taux (SE) et du rendement en sucre extractible (TSE). En ce qui concerne le taux de sucre extractible, les moyennes obtenues ont été plus élevées seulement avec le traitement T3C1 (application 15 et 30 jrs APR avec la dose de 1500 ppm) avec une moyenne de 10,02 %.

Tableau III : Qualité technologique en fonction des *différentes* doses de formulations à base d'huile essentielle de *Cymbopogon citratus*.

Traitements	Codes	<i>Cymbopogon citratus</i>			
		Richesse saccharine (Pol % C)	Pureté (%)	Sucre extractible (SE %)	Rendement sucre extractible (TSE/ha)
Traitements à l'huile essentielle	T1C2	13,75 a	90,41 a	9,73 b	5,57 a
	T1C1	13,74 a	90,43 a	9,73 b	7,76 a
	T2C2	13,69 a	89,69 a	9,58 b	6,01 b
	T2C1	13,77 a	90,40 a	9,76 b	7,26 a
	T3C2	13,86 a	90,41 a	9,84 b	7,64 a
	T3C1	13,99 a	90,72 a	10,02 a	8,64 a
Huile minérale	Banole	13,14 a	89,46 a	9,20 b	5,62 b
Témoin	TE	13,73 a	89,90 a	9,74 b	6,25 b
	<i>P</i>	0,078	0,081	0,012	0,011

Les moyennes suivies des mêmes lettres dans la même colonne ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de Student Newman-Keuls

4. Conclusion parcelle

L'efficacité des formulations à base substances naturelles a été réalisée au champ en culture de repousse. Les résultats ont indiqué que ces formulations appliquées par pulvérisation protègent les jeunes plantules de cannes à sucre contre les infections de l'agent pathogène. En effet, la formulation à base d'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* a été efficace en une seule application, soit à 15 jours ou à 30 jours après la récolte, avec la dose de 1500 ppm. Ces traitements appliqués en culture de repousse ont permis de réduire l'incidence de la maladie, le nombre de fouets/ha. Elles ont favorisé le développement des plants, sans avoir d'effet néfaste sur les qualités technologiques de la canne à sucre. Un gain considérable de rendement en sucre extractible a été obtenu grâce aux traitements.

. Bibliographie :

[16] **Abera Tafesse, 1991.** Characterization of *Ustilago scitaminea* Syd. isolates and evaluation of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) varieties for resistance to smut. MSc. Thesis. Alemaya University.pp235

[10] **Amrote Tekle Waktola, 2014.** Integrated Management Of Sugarcane Smut (*Ustilago Scitaminea*) Through Hot Water Treatment And Fungicides At Wonji-Shoa Sugar Estate Thesis Haramaya Universityethiopia: pp88

- [9] **Bhuiyan, S. A., Croft, B. J., and Tucker, G. R. 2015.** New method of controlling sugarcane smut using flutriafol fungicides. *Plant Dis.* 99:1367-1373.
- [8] **Croft B, J. and Braithwaite K.S., 2006.** Management of an incursion of sugarcane smut in Australia. *Australian plant pathology.*35: 113-122.
- [5] **Firehun Yirefu, Abera Tafesse, Yohannes Zekarias and Leul Mengistu. 2009.** Handbook of Sugarcane Pest Management in Ethiopia. Ethiopia Sugar Development Agency Research Directorate, Ethiopia 6p
- [18] **Hoarau M. (1970).** Utilisation de la presse hydraulique pour la détermination de la richesse saccharine de la canne à sucre In : La canne à sucre. Fauconnier and Bassereau. IRAT, Maisonneuve et Larose : 387-419
- [15] **Kassi Fernand Martial¹, Badou O.J., Tonzibo Z. F., Amari S. Z. L. G., Kone D. (2014).** Action du fongicide naturel NECO contre la *Mycosphaerella fijiensis* Morelet chez le bananier plantain (AAB) en Côte d’Ivoire, *Journal of Applied Biosciences* 75 : 6183– 6191
- [6] **Kouamé D.K., Péné B.C. et Zouzou M. (2012).** Sélection variétale de la canne à sucre en Côte d’Ivoire : Synthèse des résultats et proposition d’un nouveau schéma de sélection. *Journal of Scientific Research.* 84 (2) : 194-209.
- [13] **Kouamé K. D. N’guessan A. C., Kassi K.F., Kouamé K. G. Yao K.J-E, Yobouet A.A, Koné D. et Zouzou M.(2018).** *In vitro* Fungitoxicity of Four Essential Oils on Sugarcane Smut *Sporisorium scitamineum* Piep, in Côte d’Ivoire SARJNP, 1(3): 1-10
- [14] **Oussou KR, 2009.** Étude chimique et activités biologiques des huiles essentielles de sept plantes aromatiques de la pharmacopée ivoirienne. Thèse de Doctorat unique. Laboratoire de chimie organique et biologique, UFR SSMT, Université de Cocody-Abidjan.241 *Pathology.*57: 181-188.
- [1] **Piepenbring M. Stoll M. Oberwinkler F. 2002.** The generic position of *Ustilago maydis*, *Ustilago scitaminea* and *Ustilago esculenta* (Ustilaginales). *Mycol. Progress* 1: 71-80
- [2] **Raboin L.M., A Selvi K.M., Oliveira F. Paul et C Calatayud M.F. Zapater P. Brottier R Luzaran O. Garsmeur J. Carlier and A. D’hont., 2006.** Evidence for the dispersal of a unique lineage from Asia to America and Africa in the sugarcane fungal pathogen *Ustilago scitaminea*. Elsevier Inc.pp:243
- [3] **Schenck S., Pearl H., Liu Z., Moore P. and Ming R., (2005).** Genetic variation of *Ustilago scitaminea* pathotypes in Hawaii evaluated by host range and AFLP markers. (Abstract). Sugar Cane International, Agricultural Research Service. USDA, USA *U. scitaminea*). *Canadian Journal of Botany*, 62: 2043-2046.
- [7] **Singh N, Somai BM and Pillay D., 2004.** Smut disease assesment by PCR and microscopy in inoculated tissue cultured sugarcane cultivars. *Plant Sci.* 167: 987-994
- [12] **Stephen Nesnow 2016.** Conazoles and Cancer A Review, Consulting, Chapel Hill, NC, USA Chapter 10 Vol. 1: 99–110
- [4] **Yoseph A., Van D. et Colong D. 2008.** Farmers’ perceptions of sugarcane stem borers and farm management practices in the Amhara region of Ethiopia. *Inter. Journ. Of Pest Manag.* 54 (3) : 219-226

ETUDE DES PROPRIETES PHYSICOCHEMIQUES, FONCTIONNELLES, GRANULOMETRIQUES ET FERMENTAIRES DES FARINES COMPOSEES DE BLE ET DES JEUNES POUSSSES DE RONIER DANS LA PERSPECTIVE DE LA FABRICATION D'UN PAIN COMPOSE.

Niamké Arthur Michel¹, Touré Abdoulaye¹, Soro Soronoupkoho², Sea Tehi Bernard², Djaman Allico Joseph²

¹Université Peleforo GON COULIBALY, UFR des Sciences Biologiques, BP 1328 Korhogo, Côte d'Ivoire.

²Université Felix HOUPHOUËT-BOIGNY, UFR Biosciences, 22 BP 582 Abidjan, Côte d'Ivoire

GT3 (ReSAOA) : Sciences Agroalimentaires

RESUME

La consommation croissante de pain, force les gouvernements à des dépenses pour l'importation de blé [1]. Dès lors, des efforts vers la substitution du blé par les farines locales sont louables [2]. Ce travail consiste à étudier les différentes propriétés physicochimiques, fonctionnelles et granulométriques dans la perspective de la fabrication d'un pain composé des farines de blé de type 55 et de jeunes pousses de rônier. La levée de la pâte a été déterminée selon la méthode d'Aboaba [3]. Les autres méthodes utilisées sont celles décrites par Niamke et al., 2021 [4]. L'incorporation de la farine des jeunes pousses de rônier dans les farines composées a augmenté les teneurs en sucres réducteurs, en sucres totaux et surtout en fibres. Le pourcentage de solubilité et la capacité d'absorption d'eau des farines de blé et des farines composées ne sont pas significativement différents au seuil de 5%. La farine de jeunes pousses de rônier est la plus fine avec une teneur en grains de diamètre inférieur à 63µm plus élevée. Ces études nous ont révélé que la farine de jeune pousse de rônier pourrait être incorporée jusqu'à un taux de 5% dans la farine de blé pour la fabrication d'un pain composé.

Mots clés : Farine, blé, rônier, activité fermentaire

Study of the physicochemical, functional, granulometric and fermentative properties of composite flours of wheat and young shoots of the palmyra palm with a view to the manufacture of a composite bread

ABSTRACT

The growing consumption of bread forces governments to spend money on wheat imports [1]. Therefore, efforts towards the substitution of wheat by local flours are commendable [2]. This work consists in studying the different physicochemical, functional and granulometric properties in the perspective of the manufacture of a bread composed of wheat flours of type 55 and young shoots of palmyra palm. The leavening of the dough was determined according to the method of Aboaba [3]. Other methods used were those described by Niamke et al. 2021 [4]. The incorporation of young shoots flour into the composite flours increased the content of reducing sugars, total sugars and especially fibre. The

percentage solubility and the water absorption capacity of the wheat flours and the composite flours were not significantly different at the 5% threshold. The flour from young shoots is the finest with a higher content of grains with a diameter of less than 63µm. From these studies we know that young shoots flour could be incorporated up to 5% in wheat flour for the production of compound bread.

Key words: Flour, wheat, palmyra palm, fermentative activity

References

- [1] **Altesial, 1981**. Nourrir autrement, pari sur une démarche appropriative dans dossier technologique et développement. Gret Paris
- [2] **Naku, 1989**. Phytotechnie. Cours inédits. IFA-YANGAMBI
- [3] **Aboaba OO et Obakpolor EA, 2010**. The leavening ability of baker's yeast on dough prepared with composite flour (wheat/cassava). *Afr J Food Sci*. Vol. 4(6), pp. 325 – 329.
- [4] **Niamké Arthur Michel, Touré Abdoulaye, Soro Soronoupkoho, Sea Tehi Bernard², Djaman Allico Joseph**. Etude des propriétés physicochimiques, fonctionnelles, granulométriques et fermentaires des farines composées de blé et des jeunes pousses de rônier dans la perspective de la fabrication d'un pain composé. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 2021, 15(03), 127-137.

Introduction

Le pain est une nourriture de base, mondiale, (**Bibiana et al., 2014**) consommé dans différentes parties du monde. C'est l'aliment de base traditionnel de nombreuses cultures. Il est fabriqué à partir des ingrédients que sont la farine de blé et l'eau. Il contient généralement du sel. D'autres ingrédients s'ajoutent selon le type de pain et la manière dont il est préparé culturellement. Lorsque l'on ajoute le levain ou la levure, la pâte du pain est soumise à un gonflement dû à la fermentation (**Zhou et Therdthai, 2006**).

La consommation de pain de plus en plus croissante dans les milieux urbains des pays en voie de développement, force les gouvernements à des dépenses croissantes en devises pour l'importation de blé (**Altesial, 1981**). En effet, en 2010, L'Afrique Subsaharienne a importé 12,3 millions de tonnes de blé (Akdowna, 2013) et selon **Aude Deshoux en 2020**, la Côte d'Ivoire a importé 625000 tonnes de blé en 2019 pour environ 150 millions d'euros.

Dès lors, des efforts vers la substitution partielle de farine de blé par les farines locales sont déjà fort louables. IL est donc préférable, de se pencher sur des sources locales de farine, de façon à ce que la réduction de l'importation de blé puisse réellement contribuer à l'économie des devises, à affecter

dans d'autres secteurs de l'économie nationale, principalement dans l'agriculture et à stimuler le passage d'une agriculture paysanne, vers une agriculture industrielle (Naku, 1989).

Aujourd'hui, grâce à l'amélioration des pratique agricoles, des millions de tonnes de cultures sous-utilisées sont disponibles (Adewusi et al., 1995 ; Amusa et al.,2002). C'est le cas des jeunes pousses de rônier (*Borassus aethiopum mart*). C'est un tubercule beaucoup consommé dans le centre de la côte d'ivoire (Kouame, 1992). L'utilisation économique de la jeune pousse de rônier est limitée à cause de sa méconnaissance par la majeure partie de la population ivoirienne. Le caractéristiques physico-chimiques et nutritionnel ont été évaluées (Niamke et al., 2013). Néanmoins les comportements de cette farine pendant la cuisson, ainsi que les propriétés rhéologiques et les qualités boulangères des farines composées à partir d'un mélange potentiel des farines de blé et de la farine des jeunes pousses de rônier, ainsi que l'analyse sensorielle du pain obtenu n'ont jamais été analysés.

Dans le but d'établir, un procédé de fabrication de pain composé de farine de jeune pousse et de blé, il serait important de déterminer les caractéristiques physico-chimiques et fonctionnelles de ces farines. Ainsi l'objectif général de notre étude est de valoriser les jeunes pousses de rônier par l'étude de l'impact de l'incorporation de leur farine sur l'activité fermentaire de *Saccharomyces cerevisiae* dans le processus de fabrication d'un pain composé. Les objectifs spécifiques sont :

- Déterminer les paramètres physico-chimiques des différentes farines
- Déterminer les propriétés fonctionnelles des différentes farines
- La granulométrie des différentes farines
- Mesurer la levée de la pâte en fonction de la farine incorporée

Matériels et méthodes

Matériels

-Jeunes pousses de rônier

Les jeunes pousses de rônier étudiées proviennent de Dimbokro au centre de la Côte d'Ivoire. Ces jeunes pousses sont âgées de 8 mois

-La farine de blé

C'est la farine boulangère de blé de type 55.

-Les ingrédients

Les ingrédients utilisés dans cette étude sont: le sel, la levure *Saccharomycès cerevisiae*, l'améliorant et l'eau.

Méthodes

-Production de la farine de jeunes pousses

La farine de jeunes pousses de rônier a été obtenue par différentes étapes qui sont l'épluchage des tubercules de la jeune pousse, le lavage, le découpage en petit morceau, le séchage à l'étuve à 80°C pendant 24 heures, le broyage et enfin le tamisage.

-Préparation des farines composées

Pour une masse totale de 300g, les farines composées contiennent en plus de la farine de blé, 5% (F1) ; 10% (F2) ; 15% (F3) ; 20% (F4) ; 25% (F5) de farine de jeunes pousses de rônier.

-Détermination des paramètres physico-chimiques

Taux d'humidité

La teneur en humidité a été déterminée selon la méthode de **Bainbridge et al., (1996)**. La teneur en humidité des échantillons de farine a été calculée par la différence de poids avant et après le séchage de ces échantillons.

Dans cette étude, 3 g d'échantillon de farine a été séché à l'étuve (Memmert de la marque NEO-TECH SA) à 105°C pendant 4h. Une fois refroidis, les échantillons ont été pesés et la teneur en humidité déterminée comme suit :

$$\text{Humidité (\%)} = \frac{(P2-P3)}{(P2-P1)} \times 100$$

P1 : le poids du creuset

P2 : le poids du creuset + poids de l'échantillon frais

P3 : le poids du creuset + poids de l'échantillon sec

Détermination du pH

Le pH a été déterminé selon la méthode **d'Estelle Eriksson (2013)**. Un échantillon de 10g de farine a été pesé dans un tube Falcon de 50 ml ; 90 ml d'eau distillée ont été ajoutés et mélangés. Le tube contenant le mélange est laissé au repos pendant une heure à la température ambiante. Après filtration, le pH du filtrat a été déterminé en utilisant un pH-mètre 700 de marque Eutech.

Teneur en cendres

Le taux de cendres (matière minérale totale) a été déterminé selon la méthode décrite par **AOAC (1990) [12]** par incinération à 550°C de cinq (5) grammes de chaque farine dans un four à moufle (PYROLABO) pendant 12 h.

Teneur en sucres totaux et sucres réducteurs

Extraction des sucres éthanisolubles

Les sucres éthanosolubles sont extraits selon la méthode de **Agbo et al. (1985)** comme suit.

Un (1) gramme de farine est pesé puis délayé dans 10 mL d'éthanol (80% ; v/v). Au mélange obtenu sont ajoutés 2 mL d'acétate de zinc (10% ; p/v) et 2 mL d'acide oxalique (10%, p/v). Le mélange est ensuite centrifugé à 3000 trs/min pendant 10 min. Le culot est repris avec 10 mL d'éthanol (80% ; v/v) puis est centrifugé à nouveau à 3000 trs/min pendant 10 min. Les surnageants sont transvasés dans une fiole de 50 mL et l'excès d'éthanol est évaporé au bain de sable pendant 10 min. La solution obtenue est complétée à 50 mL avec de l'eau distillée.

Dosage des sucres totaux

La teneur en sucres totaux est déterminée selon la méthode au phénol-sulfurique telle que décrite par **Dubois et al. (1956)**.

Cent (100) µL d'extrait de sucres éthanosolubles sont introduits dans un tube à essai puis, sont ajoutés successivement 0,9 mL d'eau distillée, 1 mL de phénol 5 % (p/v) et 5 mL d'acide sulfurique concentré. Après agitation puis refroidissement du tube, l'absorbance est lue au spectrophotomètre (PG INSTRUMENTS) à 490 nm, contre un blanc. La détermination de la quantité de sucres totaux est réalisée à partir d'une gamme étalon de solution mère de glucose à 1 mg/mL réalisée dans les mêmes conditions que l'essai.

Dosage des sucres réducteurs

La quantification des sucres réducteurs est réalisée suivant la méthode de **Bernfeld (1955)**.

Un (1) mL d'extrait éthanosoluble de sucres est introduit dans un tube à essai. Au contenu de ce tube, sont ajoutés 0,5 mL d'eau distillée puis 0,5 mL de solution de DNS. L'ensemble est chauffé au bain marie bouillant, pendant 5 min. Après refroidissement, 2 mL d'eau distillée sont ajoutés puis l'absorbance de la solution est lue au spectrophotomètre (PG INSTRUMENTS) à 540 nm, contre un blanc. Une gamme étalon établie dans les mêmes conditions que l'essai à partir d'une solution mère de glucose (1 mg/mL) permet de déterminer la quantité de sucres réducteurs.

Teneur en lipides

Les lipides ont été quantifiés à partir de 10 g de chaque farine par extraction au Soxhlet à l'aide de 300 mL de n-hexane pendant 7 h (**AFNOR, 1986**) [16]. Le mélange hexane-huile résultant de l'extraction a été récupéré et séparé avec un rotavapor (Heidolph). Le ballon, initialement taré et contenant l'huile, est pesé pour déterminer la masse d'huile extraite.

Teneur en protéines

Les protéines brutes sont déterminées à partir du dosage de l'azote total selon la méthode de **Kjeldhal (AOAC, 1990) [12]**. Ainsi 1g de chaque farine a été minéralisé en présence de catalyseurs Kjeldahl (sulfate de potassium K_2SO_4 et sulfate de cuivre et d'acide sulfurique concentré H_2SO_4). Le minéralisât a été purifié par distillation. L'azote a ensuite été quantifié par titration avec du H_2SO_4 0,1 N. La teneur en protéine brute des farines a été déduite à partir du taux d'azote en utilisant 6,25 comme coefficient de conversion.

Teneur en glucides totaux et valeur énergétique

Les glucides totaux (G) et la valeur énergétique (V) sont déterminés suivant la méthode de calcul préconisée par la **FAO (2002) [18]**. Cette méthode prend en compte d'une part, les teneurs en humidité (E), en matière grasse (L), en protéines (P) et en cendres (C) et d'autre part, les coefficients énergétiques.

$$\mathbf{Glucides\ totaux\ (\%)\ =\ 100\ -\ [P\ (\%) + E\ (\%) + L\ (\%) + C\ (\%)]}$$

$$\mathbf{V\ (kcal/100g)\ =\ [(4 \times P) + (9 \times L) + (4 \times G)]}$$

Teneur en fibres (Wolf, 1968)

La détermination de la teneur en fibres s'est effectuée selon la méthode de **Wolf (1968)**. Deux (2) grammes de farine sont introduits dans un ballon dans lequel sont ajoutés 50 mL d'acide sulfurique à 0,25N. Le mélange obtenu est homogénéisé et porté à ébullition pendant 30 min sous réfrigérant à reflux. Après 30 min, 50 mL de NaOH à 0,31N sont ajoutés au contenu et porté de nouveau à ébullition sous réfrigérant à reflux pendant 30 min. L'extrait obtenu est filtré sur papier filtre Whatman et le résidu est lavé plusieurs fois à l'eau chaude jusqu'à élimination complète des alcalis. Le résidu est séché à l'étuve à 105°C pendant 8 h. Après refroidissement au dessiccateur, le résidu est pesé et ensuite incinéré au four à 550°C pendant 3 h. Après refroidissement les cendres obtenues sont pesées.

La teneur en fibres brutes est donnée en pourcentage de masse d'échantillon comme suit:

$$\mathbf{Fibres\ brutes\ (\%)\ =\ \frac{(m_1 - m_2) \times 100}{m_e}}$$

m_1 : masse (g) du résidu séché.

m_2 : masse (g) des cendres obtenues.

m_e : masse (g) de l'échantillon.

Détermination de la densité apparente

La densité apparente a été déterminée par la méthode de **Falade et al., 2015**. Une masse de 10 grammes d'un échantillon de farine est mise dans un tube gradué et pesée. La farine a été compressée et le volume est lu directement. Connaissant la masse de l'échantillon, la densité de la farine est calculée à partir de la formule suivante :

$$\text{Densité (g/ml)} = \frac{\text{poids de l'échantillon}}{\text{volume de l'échantillon}}$$

-Détermination des propriétés fonctionnelles

Pouvoir gonflant et solubilité de la farine

Le pouvoir gonflant et la solubilité sont déterminés selon la méthode décrite par **Estelle Eriksson (2013)**. Dans un tube falcon de 50 ml, quatre grammes d'échantillon de farine ainsi que 40 ml d'eau distillée ont été ajoutés. Le tube a été vigoureusement secoué afin de permettre une absorption totale de l'eau par la farine. Le tube contenant le mélange a été chauffé à 90°C pendant une heure dans un bain marie (de marque memmert). Pendant le chauffage, le tube a été constamment agité (chaque 15 minutes) pour éviter la formation d'un culot. Après refroidissement à la température ambiante, le tube a été centrifugé dans une centrifugeuse (SIGMA 3-16L Néo-Tech SA ; BELGIQUE) à 5000 tr / min pendant 10 minutes. Le surnageant obtenu a été recueilli dans un creuset de poids connu puis séché à l'étuve (Mettler NEO-TECH SA) à 100°C pendant 4 heures. Après refroidissement, le poids du surnageant séché a été déterminé. Le volume du culot a été obtenu par lecture direct du tube falcon. Le pouvoir gonflant et la solubilité ont été calculés comme suit :

$$\text{Pouvoir gonflant (g/g)} = \frac{\text{Poids du culot}}{[\text{Poids de l'échantillon} \times (1 - \text{Humidité})] \times (100 - \text{Solubilité})}$$

$$\text{Solubilité (\%)} = \frac{\text{Poids du surnageant séché}}{\text{Poids de l'échantillon} \times (1 - \text{Humidité})} \times 100$$

Capacité d'absorption en eau

L'absorption d'eau des échantillons de farine a été déterminée par la méthode de **Yamazaki (1953) modifiée par Medcaf et Gilles (1965)**. Une masse de 1 g de farine a été pesée dans un tube de masse connue. La farine a été dispersée dans 10 ml d'eau distillée agitée et laissée au repos à la température ambiante pendant une heure en remuant chaque 10 min. Après 1 h, la solution a été centrifugée dans une centrifugeuse (centrifugeuse SIGMA 3-16L de marque Néo-Tech SA ; BELGIQUE) à 3000 tr /min pendant 15 minutes. Le surnageant est versé et le culot est pesé. La capacité d'absorption d'eau a été déterminée par la formule suivante :

$$\text{Absorption d'eau (\%)} = \frac{\text{poids du culot} - \text{poids de l'échantillon}}{\text{poids échantillon}} \times 100$$

Capacité d'absorption d'huile

La capacité d'absorption de l'huile est déterminée par la méthode de **(Falade et al., 2015)**. Une prise de 1 g de farine, a été dispersée dans 10 ml d'huile. Agiter et laisser au repos à la température ambiante toute la nuit. La solution est centrifugée dans une centrifugeuse (centrifugeuse SIGMA 3-16L de marque Néo-Tech SA ; BELGIQUE) à 3200 tr/min pendant 25 min. Le surnageant est versé et le culot est pesé. La capacité d'absorption de l'huile a été déterminée par la formule ci-dessous:

$$\text{Absorption d'huile (\%)} = \frac{\text{poids du culot} - \text{poids de l'échantillon}}{\text{poids de l'échantillon}} \times 100$$

-La levée de la pâte ou activité fermentaire de *Saccharomyces cerevisiae*

La levée de la pâte a été déterminée selon la méthode modifiée d'**Aboaba et Obakpolor (2010)**. Cette méthode consiste à évaluer l'activité fermentaire de la levure (*Saccharomyces cerevisiae*) dans la pâte. Un échantillon de 10g de pâte a été pesé sur une balance (marque OHAUS) et mis dans un tube falcon gradué puis déposé à l'étuve (Mettler NEO-TECH SA) à la température de 30°C. La levée a été mesurée chaque 10 min.

-Détermination de la granulométrie des farines

La granulométrie des farines est estimée par fractionnement de la masse total des farines à travers une série de tamis d'ouverture de maille décroissante (2mm, 1mm, 500um, 250um, 125um et 63um). Sous le tamis de 63um est disposé un couvercle de récupération (le fond).

L'échantillon est déposé dans un tamis de différentes mailles et fermé avec un couvercle. Le tamis est remué (secoué) pendant 30minute.

Les grains se déposent les uns après les autres selon la taille de leur diamètre. Les refus et les passants de chaque tamis sont pesés avec une balance technique (Denver instrument SI-4002) de précision.

Etude Statistique

Toutes les analyses ont été réalisées en triple essai, puis les données traitées à l'aide du logiciel Statistical Program for Social Sciences (SPSS version 20.0, SPSS for Windows, USA). Pour chaque caractéristique, les résultats ont été exprimés sous la forme de moyennes suivies de leurs écart-types comme paramètres de dispersion des données. Une analyse de variance à un facteur (ANOVA 1) a également été réalisée afin de tester l'effet de la farine sur les caractéristiques évaluées, au seuil de significativité statistique de 5%. Pour les moyennes statistiquement différentes, la classification a été effectuée avec le test de Student-Newman-Keuls.

Résultats et Discussion

Paramètres physico-chimiques (tableau I)

Les résultats des analyses physicochimiques des différentes farines, montrent que l'humidité de la farine de blé (11,22%) est supérieure à celle de la farine de la jeune pousse (3,89%). Les taux d'humidité dans les farines composées vont de 09,55% à 10,78%. Ces taux d'humidité sont en dessous du taux maximum de 15.5% défini par la Commission du Codex Alimentarius (CAC, 1985). En effet, lorsque la teneur en humidité est élevée, il se produit une agrégation des particules de la farine réduisant ainsi sa qualité et sa fonctionnalité (Aguilera *et al.*, 1995).

La jeune pousse de rônier a un pH de 5,22. Elle est plus acide que le blé dont le pH est de 5,77. Au niveau des farines composées on constate qu'il y a une légère variation du pH entre les différentes substitutions, néanmoins leurs pH est proche de celui du blé. Le pH varie très peu et reste inférieur à 7 malgré l'augmentation du taux de substitution en farine de jeunes pousses. Ce résultat est comparable à celui de Yetunde *et al.*, (2009) et de Alozie *et al.*, (2009). Le pH est le signe de l'acidité ou alcalinité de la farine et affect grandement ses performances durant son utilisation dans le système alimentaire. Lorsqu'une farine a un pH<4 cette farine est dite très acide ce qui dénote une importante fermentation et par conséquent une grande dégradation de l'amidon présent. Ce type de farine ne serait donc pas approprié pour la panification (Tortoe *et al.*, 2017).

La présence de la farine de jeunes pousses dans les farines composées, permet d'améliorer leurs teneurs en sucres totaux et sucres réducteurs.

La présence de la farine de jeunes pousses dans les farines composées permet aussi d'améliorer leurs teneurs en fibres. Le pain préparé à partir de ces farines pourrait constituer une source non négligeable de fibres alimentaires qui sont éliminées plus lentement de l'estomac et améliorent ainsi le transit intestinal. Ces fibres alimentaires sont absolument indispensables à l'équilibre du tube digestif et à celui de l'organisme. Elles représentent un facteur de bonne santé. Les études ont montré une corrélation inverse entre la consommation des fibres alimentaires et le cancer du côlon. En effet, les fibres ont la capacité de se complexer aux molécules cancérigènes, empêchant ainsi leur contact avec le colon et facilitant leur excrétion (Jansen *et al.*, 1999 ; Chene, 2003). La consommation de pains préparés pourrait donc augmenter le volume gastrique et constituer un état post-ingestif permettant d'atteindre plus rapidement un état de satiété (Chene, 2003 ; Al-Dobaib, 2009). Les fibres réduisent en général le taux de glucose sanguin, de cholestérol-HDL, cholestérol-LDL et contribuent ainsi à réduire les maladies coronariennes (Jalili *et al.*, 2000).

Statistiquement, il n'y a pas de différence significative entre les densités apparentes de toutes les farines au seuil de 5%. La densité est un paramètre très important en ce sens qu'elle détermine les conditions d'emballage et de transport du produit alimentaire.

Tableau I : Propriétés physico-chimiques

Paramètres	FB	FJ	F1	F2	F3	F4	F5
H (%)	11,22±0,19c	3,89±0,19a	10,78±0,19c	10,73±0,14c	10,11±0,19b	9,67±b	9,65±0,69b
pH	5,77±0,02e	5,22±0,01a	5,76±0,006de	5,75±0,01cde	5,73±0,006bcd	5,72±bc	5,70±0,01b
ST(%)	3,91±0,03a	7,52±0,36g	4,26±0,12b	4,61±0,05c	5±0,07d	5,35±0,08e	5,83±0,07f
SR (mg/100g)	58,70±0,43a	158,10±0,71g	62,76±0,37b	77,57±0,28c	80,73±0,69d	86,41±0,59e	90,60±0,3f
Lipides (%)	2b	1,06±0,42a	1,87±0,58b	2,2±0,2b	2,27±0,23b	2,4±0,2b	2,67±0,11b
Protéines (%)	9,77±0,07c	9,15±0,22b	8,93a	9,81c	9,80±0,01c	9,81c	9,81±0,005c
GT (%)	76,14±0,25a	83,96±0,67c	77,62±0,39b	76,59±0,46ab	77,15±0,28ab	77,45±0,23b	77,24±0,67ab
V (Kcal/100g)	361,64±0,88a	382,04±1,27d	363,01±3,65a	365,4±0,70ab	368,23±1,4bc	370,65±1,96c	372,19±3,3c
Cendres (%)	0,87±0,23a	1,93±0,3b	0,8a	0,67±0,3a	0,67±0,11a	0,67±0,3a	0,73±0,11a
Densité apparente (g/ml)	0,625a	0,66a	0,64±0,02a	0,64±0,02a	0,64a	0,67±0,04a	0,67±0,04a
Fibres (%)	6,53±0,2a	19,71±0,18g	7,16±0,05b	9,05±0,09c	10,26±0,16d	11,52±0,13e	12,57±0,21f

Par ligne, les moyennes portant les mêmes lettres sont statistiquement identiques

FB : farine de blé type 55 ; FJ : farine de Jeune pousse de rônier ; F1 : 5% de rônier ; F2 : 10% de rônier ; F3 : 15% de rônier ; F4 : 20% de rônier ; F5 : 25% de rônier ; H : humidité ; ST : Sucres Totaux ; SR : Sucres Réducteurs ; GT : Glucides Totaux ; V : Valeur énergétique ; MG : Moyenne Générale.

Propriétés fonctionnelles (Tableau II)

Il n'y a pas de différences significatives entre la teneur en solubilité de la farine de blé et celles des farines composées. La solubilité de la farine de blé est plus élevée que celle de la farine de jeune pousse alors qu'elle décroît pour les différentes farines composées. La solubilité est la capacité des substances solides de la farine à se dissoudre ou se disperser dans un milieu aqueux. La solubilité est associée à la teneur en amylose de la farine. Par conséquent plus la teneur en amylose est élevée plus la solubilité est grande (Buckman *et al.*, 2017).

Il n'y a pas de différences significatives entre les pouvoirs gonflants de toutes les farines. Le pouvoir gonflant est une mesure de la capacité d'hydratation et de gonflement des granules d'amidon et reflète aussi l'étendue des forces associatives existante entre la phase amorphe et la phase cristalline des grains d'amidon ainsi qu'entre les grains d'amidon (**Falade et Okafor, 2015 ; Buckman et al., 2017**). Un plus grand index de gonflement indiquerait une faible association intermoléculaire entre les granules d'amidon.

La capacité d'absorption d'eau de la farine de jeunes pousses de rônier est plus élevée (175,62%). Par contre, il n'y a pas de différences significatives entre les capacités d'absorption d'eau de la farine de blé et des farines composées. En outre, l'utilisation des farines comme ingrédients alimentaires dépend, dans une large mesure, de leur interaction avec l'eau. La capacité d'absorption de l'eau des farines joue un rôle important dans le processus de préparation des aliments car elle prédit la capacité de la farine à absorber l'eau dans des conditions où l'eau se trouve en quantité limitée. Une capacité élevée permet d'ajouter plus d'eau à la pâte, améliorant ainsi sa maniabilité. De plus, la capacité d'absorption en eau est une propriété essentielle des pâtes et les produits de boulangerie car elle permet l'épaississement et l'augmentation de la viscosité des aliments (**Falade et Okafor, 2015**). La grande capacité d'absorption d'eau par la farine de jeune pousse, pourrait traduire la présence de quantité élevée de substances hydrophiles capables d'améliorer la viscosité de divers produits alimentaire (Grah et al., 2014). Cela pourrait refléter aussi une plus grande interaction entre les protéines et l'eau du système formé. De plus, le type de protéine telles que les protéines polaires augmenteraient aussi cette capacité (**Tortoe et al., 2017 ; Grah et al., 2014**). Il est important de noter que la capacité d'absorption d'eau de farine de blé est inférieure à celle du rônier malgré sa grande teneur en protéine, cela pourrait signifier une forte présence de protéines hydrophobes dans la farine de blé.

L'huile est plus absorbée par le blé que la jeune pousse présentant un pourcentage d'absorption d'huile (118,47%) supérieur à celui de la farine de jeune pousse (115,70%). Pour les farines composées, la capacité d'absorption d'huile est comprise entre 115,39% et 117,63%. La capacité d'absorption d'huile est une caractéristique importante dans les formulations d'aliments gras car elle agirait comme un dispositif de retenue de saveur et exhausteur de sensation en bouche (**khatab et Arntfield, 2009 ; Yadahally, 2011**). Cette capacité d'absorption d'huile par la farine est due aux interactions existantes entre la chaîne latérale des amino-acides non polaires et les chaînes hydrocarbonés des lipides (**Shindhu et al., 2016**).

Tableau II : Propriétés fonctionnelles

Paramètres	FB	FJ	F1	F2	F3	F4	F5
Solubilité (%)	14,38±0,94b	12,23±0,86b	13,83±0,14b	13,76±0,12b	13,57±0,14b	13,36±0,12b	13,16±0,1b
Pouvoir gonflant (g/g)	0,054±0,001a	0,066±0,01a	0,053±0,0006a	0,054±0,0006a	0,057±0,0007a	0,058±0,001a	0,059±0,001a
Capacité d'absorption d'eau (%)	85,04±11,22a	175,62±26,32b	90,71±9,49a	91,55±0,4a	92,54±1,73a	93,71±4,88a	94,26±0,84a
Capacité d'absorption d'huile (%)	118,47±1,8b	115,70±0,9a	117,63±1,09ab	117,56±0,17ab	116,72±0,13ab	116,54±0,17ab	115,39±0,22a

Par ligne, les moyennes portant les mêmes lettres sont statistiquement identiques

FB : farine de blé type 55 ; FJ : farine de Jeune pousse de rônier ; F1 : 5% de rônier ; F2 : 10% de rônier ; F3 : 15% de rônier ; F4 : 20% de rônier ; F5 : 25% de rônier.

Classification granulométrique des différentes farines (Tableau III)

Les résultats de la classification granulométrique ont permis de séparer sept fractions caractéristiques des sept farines exprimées en pourcentage présente dans le tableau III. Ce tableau montre que toutes les farines sont composées de grains ayant un diamètre inférieur à 250 µm. La farine de jeunes pousses de rônier est la farine la plus fine avec un pourcentage de grains dont le diamètre est inférieur à 63 µm est le plus élevé (67%), suivie des farine composées de 20% et 25% (15%) (Voir tableau III). La granulométrie des farines revêt une importance majeure quant à leur analyse et leur utilisation. En effet, elle permet de détecter la présence de particule étrangère et de se prononcer sur des problèmes de la mouture. Elle joue un rôle fondamental dans l'hydratation ce qui est de l'opération de la panification et de la préparation de la pâte. Elle permet aussi de prévoir son comportement lors de l'hydratation. En boulangerie, la quantité d'eau absorbée lors de la fermentation de la pâte, ainsi que la vitesse d'absorption d'eau augmente avec la finesse des particules de la farine (Colas et Tharrault, 1997 ; Feillet, 2000) (Tableau III)

Tableau III: Granulométrie des différentes farines

Classe des farines en fonction du diamètre en (mm) et en (µm)	100% blé en %	5% jeune pousse en %	10% jeune pousse en %	15% jeune pousse en %	20% jeune pousse en %	25% jeune pousse en %	100% jeune pousse en %
< 2mm	100	100	100	100	100	100	100
<] 2mm ,1mm]	100	100	100	100	100	100	100
<] 1mm, 500µm]	100	100	100	100	100	100	99
<] 500 µm, 250µm]	96	98	99	98	97	99	98
<] 250 µm, 125µm]	43	38	38	43	51	52	78
<] 125 µm, 63µm]	4	13	6	8	15	15	67
<63µm	4	13	6	8	15	15	67

Influence de la farine de jeune pousse sur l'activité fermentaire de *Saccharomyces cerevisiae* (figure 1)

La farine de 100% blé met une durée de 110 minutes pour atteindre un volume maximal de 35,41ml. Par contre, la farine composée de 5% de jeune pousse met une durée 100 minutes pour atteindre un volume maximal de 35,38ml et sa courbe se trouve au-dessus de celle de 100% blé jusqu'à 100 minutes. La farine de 10% met une durée de 80 minutes pour atteindre son maximum de 29,82 ml. La farine composée de 15% de jeune pousse met une durée de 110 minutes pour atteindre 29,78ml et sa courbe chevauche avec celle de 100 blés mais à 50 minutes, sa courbe est en dessous de celle de 100% blé et est semblable à celle de 10% mais en dessous de la farine composée de 5% jeune pousse. Les farines de 20% (27,21 ml) et 25% (23,78ml) de la jeune pousse n'ont pas pu atteindre le volume maximal de 35,41ml en 110 minutes. La farine de 100% jeune pousse met une dure de 90 minutes pour atteindre un volume constant de 12.56ml (voir figure 1).

L'habilité de la levure boulangère, *Saccharomyces cerevisiae*, à fermenter la farine de blé et la farine composée (blé et de la jeune pousse) a été investiguée dans cette étude. Ici, le temps nécessaire à la pâte fermentée pour atteindre un volume maximal a été analysé. Pendant la fermentation, la levure consomme les sucres fermentescibles de la farine et produit du dioxyde de carbone et de l'éthanol. Le dioxyde de carbone produit est responsable de la levée de la pâte. En effet, le gaz produit est emprisonné par le réseau de gluten formé au cours du pétrissage par les protéines de la farine de blé (gliadine et glutamine). Cette capacité de rétention du dioxyde de carbone produit dépend de la structure du réseau formé (Akbar et al., 2012).

L'incorporation de plus de 10% de farine de rônier à la farine de blé influence négativement l'activité fermentaire de *Saccharomyces cerevisiae* et probablement la formation et la stabilité du réseau de gluten par conséquent l'élasticité de la pâte.

Dans cette étude, Il a été observé que l’incorporation de farine de jeune pousse à celle de blé dans la production de pain composite conduit à un changement du profil de la levée de la pâte par rapport à celle de 100% blé. En effet, l’inclusion de la farine de jeune pousse à un taux de 5% se traduit par une levée de la pâte nettement supérieure à celle de 100% blé jusqu’à 100 minutes. Un résultat comparable a été aussi obtenu par Ade- omowaye et *al.* (2008) à partir de 5% de souchet et de 95% de blé. Par contre, une incorporation à un taux allant de 10 à 25% se traduit par une levée de la pâte nettement inférieure à celle de 100% blé, lorsque la fermentation est conduite à température de 30°C. Ceci peut s'expliquer par le fait que, au fur à mesure que la concentration de farine de blé dans chaque échantillon successif était réduite, la concentration de gluten de blé était également réduite et donc une diminution correspondante du volume de la pâte. Le gluten est responsable de l'emprisonnement du dioxyde de carbone produit par la respiration des levures et, finalement, de l'élasticité de la pâte.

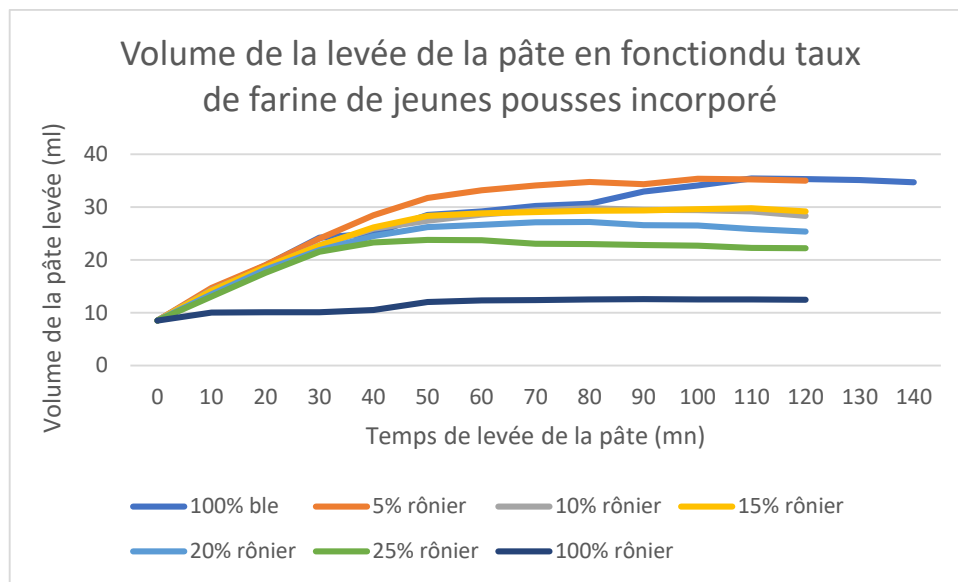


Figure 1 : Graphique récapitulatif de la poussée de la pâte fermentaire

Conclusion :

Ces différentes études nous ont permis de savoir que dans le processus de fabrication de la pâte de pain, de la farine de jeune pousse de rônier pourrait être incorporée jusqu’à un taux de 5% dans la farine de blé. Cette incorporation a permis d’obtenir un volume de pâte fermentaire nettement supérieur à celui de la référence de 100% blé jusqu’à 100 minutes. Au-delà de 5% d’incorporation de la farine de jeunes pousses de rônier, la levée de la pâte diminue au fur et à mesure. De plus, l’étude des paramètres physico-chimiques des différentes farines a montré que l’incorporation de la farine de jeunes pousses de rônier, a amélioré la teneur en sucres totaux, la teneur en sucres réducteurs et la teneur en fibres qui serait bénéfique pour les consommateurs.

Références Bibliographiques

1. **Bibiana I., Grace N. et Julius A, 2014.** Évaluation de la qualité du pain composé produit à partir de farine de patate douce et de chair de blé, de maïs et d'orange. *Journal américain des sciences et technologies alimentaires*. 2 (4): 109-115.
2. **Zhou W., et Therdthai N, 2006.** Étude sur l'effet de l'amidon endommagé sur la qualité de cuisson des nouilles. *Nourriture Sci. Technol.* 10: 68-70.
3. **Altesial, 1981.** Nourrir autrement, pari sur une démarche appropriative dans dossier technologique et développement. Gret Paris
4. **Akdowa EP, 2013.** Production de pain à base d'une farine composée de blé-taro au Cameroun : Etude technique. 1^{ère} Conférence AGRAR Yamoussoukro 03/06/2013.
5. **Aude Deshoux, 2020.** Etude BCI Info : Secteur Meunerie-Boulangerie. Côte d'Ivoire, 13p.
6. **Naku, 1989.** Phytotechnie. Cours inédits. IFA-YANGAMBI
7. **Adewusi SRA, Akpobome JU et Osuntogun BA. 1995.** Etudes sur la teneur en glucides de l'arbre à pain (*Artocarpus communis* Forst) du sud-ouest du Nigeria. *Starch / Starke* 47: 289-294.
8. **Amusa NA, Kehinde LA et Ashaye OA. 2002.** Biodétérioration de l'arbre à pain (*Artocarpus communis*) en stockage et son effet sur la composition en nutriments. *Afr. J. Biotechnol.* 1 (2): 57-60.
9. **Kouame D., 1992.** Le palmier rônier (*Borassus aethiopum*, Mart) Etude de la microflore de la pulpe et de la fermentation alcoolique du jus de fruit de rônier. Thèse Université de Cocody, FAST.156p
10. **Niamke AM, Saki SJ, Sea TB, Pierre E., Olivier KC, Georges NA, et Joseph AD, (2013).** Physicochemical characterization, enzymatique and rheology of the flour of young shoots of palmyra (*Borassus aethiopum mart.*). p 037-047
11. **Bainbridge, Z., K. Tomlins, K. Wellings and A. Wesby ,1996.** Methods of Assessing Quality Characteristics of Non-Grain Starch Staples (Part 3-Laboratory Methods). 1st Edn., Natural Resources Institute, Chatham, UK., 1-70
12. **Estelle Eriksson, 2013.** Flour from three local varieties of Cassava (*Manihot Esculenta Crantz*): Physico-chemical properties, bread making quality and sensory evaluation. Master Thesis. Publikation/Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för livsmedelsvetenskap, no 371 Uppsala.
13. **AOAC, 1990.** Official methods of analysis of the AOAC, 15th ed, Methods 932.06, 925.09, 985.29, 923.03. Association of official analytical chemists. Arlington, VA, USA.
14. **Agbo NG, Uebersax M. & Hosfield G., 1986.** An efficient extraction technique of sugars from dry edible beans (*phaseolus vulgaris*) and estimation in HPLC, Université Nationale de Côte d'Ivoire. *Annals serie C (sciences) Tome XXI* : 169-184.
15. **Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA and Smith F, 1956.** Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Anal. Chem.*, **28**, 350-356.
16. **Bernfeld P., 1955.** Amylase bêta and alpha (Assay Method), in *methods in enzymology*, Ed., Academic press, New-york, pp 149-154.
17. **AFNOR, 1986.** Recueil de normes françaises. Contrôle de la qualité des produits laitiers. AFNOR, Paris – la- défense.
18. **FAO, 2002.** Report of the International Rice commission. Vingtième session, 23-26 juillet 2002, Bangkok, Thaïlande.
19. **Wolff JP, 1968.** Manuel d'analyse des corps gras ; Azoulay ed., Paris (France), 519p.
20. **Falade, Kolawole O. et Okafor, Chidinma A, 2015.** Physical, functional, and pasting properties of flours from corms of two Cocoyam (*Colocasia esculenta* and *Xanthosoma sagittifolium*) cultivars. *J Food Sci Technol* 2015 Jun; 52(6): 3440–3448.
21. **Yamazaki, WT, 1953.** An alkali water relation test for the evaluation of cooking, baking potentialities of soft water wheat flour. *Cereal Chem*, 30: 242-246
22. **Medcalf, DJ and Gilles KA, 1965.** Wheat starches 1. Comparison of physicochemical properties. *Cereal Chem.*, 42: 558-568.
23. **Aboaba OO et Obakpolor EA, 2010.** The leavening ability of baker's yeast on dough prepared with composite flour (wheat/cassava). *Afr J Food Sci.* Vol. 4(6), pp. 325 – 329.
24. **CAC, 1985.** Codex Standard for Wheat Flour: Codex Stan 152-1985. Codex Alimentarius Commission. Italy: CAC Press.
25. **Aguilera J.M., Del Valle J.M. and Karel M., 1995.** Caking phenomenon in amorphous food powders. *Trends in Food Sciences Technology* 6 :149-155.
26. **Yetunde Ezinwanyi Alozie, Mary Arikpo Iyam, Olajumoke Lawal Ukpong Udofia et Ime Franklin Ani, 2009.** Utilisation of Bambara Groundnut flour blends in bread production, *J Food Technol* 7 (4) 111-114.

27. **Alozie Ye, Lyam Ma, Lawal O., Udofia U., Ani If, 2009.** Utilization of Bambara ground flour blends in bread production. In *J Food Technol.* 7(4), 2009, p.111-114.
28. **Tortoe, C., Akonor, PT, Koch, K., Menzel, C. and Adofo, K, 2017.** Physicochemical and functional properties of flour from twelve varieties of Ghanaian sweet potatoes. *Inter Food Res J.* 24(6): 2549-2556
29. **Jansen MC, Buenode-Mesquita HB, Buzina R., Fidenza F., Menotti A., Blackburn H., Nissinen AM, Kok FJ, Kromhout D., 1999.** Dietary fiber and plant foods in relation to colorectal cancer mortality : the seven countries study. *Int. J. cancer.* **81**, 174-179.
30. **Chene C., 2003.** Journal de l'ADRIANOR Agro-jonction n°33. Septembre-octobre 2003. Les fibres alimentaires pp.1-8
31. **Al Dobaib N., 2009.** Effect of diets on growth, digestibility, carcass and meat quality characteristics of four rabbits breeds. *Saudi J. Biol. Sci.* **17**,83-93
32. **Jalili T., Wildamn R.F.C., Medeiros D.M., 2000.** Nutraceutical roles of dietary fiber. *J.Nutri.Funct.and Med.Foods.* **2**, 19-34.
33. **Buckman Evelyn S., Ibok Oduro, Wisdom A. Plahar, Charles Tortoe, 2017.** Determination of the chemical and functional properties of yam bean (*Pachyrhizus erosus* (L.) Urban) flour for food systems. *Food Sci Nutr.*; 1–7.
34. **Grah Avit Maxwell Beugre1, Beda Marcel Yapo, Sika Hortense Blei, Dago Gnakri, 2014.** Effect of Fermentation Time on the Physico-Chemical Properties of Maize Flour. *Inter J Res Studies Bios* (IJRSB) 2(8): PP 30-38
35. **Khattab, RY, et Arntfield, SD, 2009** Nutritional quality of legume seeds as affected by some physical treatments 2. Antinutritional factors. *LWT - Food Science and Technology* 42 (2009) 1113–1118.
36. **Yadahally N. Sreerama ft, Vadakkoot B. Sashikala, Vishwas M. Pratape, Vasudeva Singh, 2011.** Nutrients and antinutrients in cowpea and horse gram flours in comparison to chickpea flour: Evaluation of their flour functionality. *Food Chem.* 131 (2012) 462–468
37. **Ritu Shindhu, Bhupendar Singh Khatkar, 2016.** Physicochemical and functional Properties of Starch of flour of Tartary Buckwheat (*F. Tataricum*) Grains. *International Journal of Engineering Research &Technology (IJERT)*. Volume 05, Issue 06 (June 2016), <http://dx.doi.org/10.17577/IJERTV5IS060432>
38. **Colas A. et Thaurrault JF, 1997.** Granulométrie des particules. In, **GodonB. Willm c.** Les industries des céréales. Lavoisier. Tec et Doc/Apiaria.Paris : 42-49.819P.
39. **Feillet P., 2000.** Les grains de blé, composition et utilisation. INRA. Paris. 308p.

Optimisation de l'hydrolyse thermochimique de la cosse de cabosses de cacao (CCC) (*theobroma cacao*) pour la production de sucres fermentescibles en utilisant la méthodologie de *Box-Behnken*

Ouattara Leygnima Yaya¹, Yao Kouassi Benjamin¹

¹UMRI 58, Laboratoire des Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles (LAPISEN), INP-HB, BP 1093 Yamoussoukro (Côte d'Ivoire)

leygnima.ouattara18@inphb.ci

Résumé

En raison des préoccupations environnementales croissantes, le changement climatique et la rareté des ressources naturelles, des efforts ont été récemment déployés pour produire des produits chimiques et des matériaux à partir de la lignocellulose, du fait de leur disponibilité sous forme de résidus organiques et leur forte teneur en glucides. Cependant, ces glucides sont contenus dans un réseau consolidé par la lignine et l'hydrolyse du substrat délignifié est nécessaire pour y accéder. La présente étude a été entreprise afin de produire un hydrolysate de CCC riche en sucres fermentescibles. Le substrat issu de la délignification optimisée a été soumis à un plan de *Box-Behnken* avec trois facteurs : le temps d'autoclavage (X_1), le rapport biomasse/solvant (X_2) et la concentration de H_2SO_4 (X_3). Les conditions optimales d'hydrolyse étaient : 29,49 min d'autoclave, ratio biomasse/solvant de 9,46 (% p/v) et 4,78 (% p/v) d'acide, donnant une teneur maximale de sucres réducteurs (SR) de 18,19 g/L. Le modèle quadratique avec un coefficient de détermination de 0,98 s'est avéré significatif. Les résultats de cette étude ont montré l'importance de l'optimisation du processus d'hydrolyse après une délignification appropriée. L'hydrolysate pourrait servir de source de carbone pour la production de bioproduits.

Mots-clés Coque de cabosse de cacao . Hydrolyse acide. Optimisation. Sucres réducteurs

Optimization of thermochemical hydrolysis of cocoa pod husks (CPH) (*theobroma cacao*) to produce fermentable sugars using *Box-Behnken* methodology

Abstract

Due to growing environmental concerns, climate change and scarcity of natural resources, efforts have recently been made to produce chemicals and materials from lignocellulose [1], due to its availability as organic residues. and their high carbohydrate content [2]. However, these carbohydrates are contained in a network consolidated by lignin and hydrolysis of the delignified substrate is necessary to access them. The present study was undertaken to produce a CPH hydrolyzate rich in fermentable sugars. The substrate resulting from the optimized delignification [3] was subjected to a *Box-Behnken* plan with three factors: the autoclaving time (X_1), the biomass/solvent ratio (X_2) and the concentration of H_2SO_4 (X_3). The optimal hydrolysis conditions were: 29.49 min of autoclave, biomass/solvent ratio of 9.46 (% p/v) and 4.78 (% p/v) of acid, giving a maximum yield of reducing sugars (RS) of 18.19 g/L. The quadratic model with a coefficient of determination of 0.98 was found to be significant. The results of this study showed the importance of the optimization of the hydrolysis process after an appropriate delignification. The hydrolyzate could serve as a carbon source for the production of bioproducts.

w/v) and 4.78 (% w/v) of acid, giving maximum sugar content 18.19 g/L reducers. The quadratic model with a coefficient of determination of 0.98 was found to be significant. The results of this study showed the importance of optimizing the hydrolysis process after proper delignification. The hydrolyzate could serve as a carbon source for the production of bioproducts.

Keywords Cocoa pod husk . Acid hydrolysis . Optimization . Reducing sugars

1. Introduction

La valorisation de la biomasse lignocellulosique en composés chimiques à haute valeur ajoutée est l'un des enjeux majeurs de la substitution des produits pétroliers [1]. Des problèmes économiques, sociaux et environnementaux alarmants ont créé une atmosphère de recherche intensive pour substituer les matières premières à la production d'énergie et de produits chimiques dans les années à venir [2]. L'utilisation de ces ressources résiduelles peut atténuer les problèmes environnementaux, réduire la consommation de combustibles fossiles et conduire à une économie intégrée alternative [3]. En effet, des caractéristiques potentielles telles que l'abondance naturelle, la capacité de renouvellement, la recyclabilité et la facilité d'accessibilité tout au long de l'année. Ajoutées à cela, leurs caractéristiques physico-chimiques et biologiques intéressantes font de la biomasse résiduelle un substrat d'énorme valeur industrielle et biotechnologique et un candidat éco-attractif et pétro-alternatif [4] pour le développement d'une gamme de produits à haute valeur ajoutée. La Conférence des Nations Unies sur l'environnement et le développement (CNUED) a prédit que l'utilisation des ressources de la biomasse pourrait atteindre la moitié de l'utilisation totale des ressources dans le monde d'ici à 2050 [5].

La CCC est une source lignocellulosique riche en glucides (43,9 % à 45,2 %) [6]. Et, elle est facilement disponible en Côte d'Ivoire, qui a produit 2,15 millions de tonnes de fèves de cacao en 2019 [7], soit 42 % de la production mondiale [8]. Parallèlement, la production de cette biomasse est estimée à 6,450 millions de tonnes de cabosses [9], ce qui représente plus de 75 % du poids sec du fruit entier [10, 11]. Cependant, le principal obstacle à l'utilisation de la biomasse cellulosique comme substrat, est le choix d'une méthodologie optimale de prétraitement et d'hydrolyse pour libérer les sucres fermentescibles. Le procédé d'hydrolyse acide dilué est un moyen efficace et économique de dégrader la biomasse [12, 13]. Les acides forts HCl et H₂SO₄ sont capables de gonfler et de dissoudre la cellulose [6]. De plus, H₂SO₄ est l'un des principaux réactifs d'hydrolyse en raison de son faible coût. Il est facile à manipuler et présente une grande efficacité dans la réaction d'hydrolyse [14]. Par ailleurs, il a été démontré que l'utilisation d'acide sulfurique peut éliminer jusqu'à 100 % de l'hémicellulose présente avec certains résidus [14]. Parallèlement, le problème de l'hydrolyse enzymatique est la faible accessibilité de la cellulose, due à l'association rigide de la cellulose avec la lignine [15, 16]. En effet, 90 % du rendement en monosaccharides pourraient être obtenus en utilisant un prétraitement acide concentré de la biomasse [17]. Le développement d'un plan expérimental est le moyen le plus efficace

d'optimiser les processus [18], et la méthodologie de surface de réponse (RSM) est une technique de modélisation statistique et mathématique utilisée pour examiner l'effet de différentes variables et leurs interactions sur la productivité [19]. Elle repose sur différentes étapes de planification, de conduite et d'évaluation des résultats d'expériences matricielles pour déterminer le meilleur niveau de facteurs de contrôle sur les propriétés caractéristiques et donc les conditions optimales pour tout processus complexe [20], et la conception de Box-Behnken (CBB) est considéré comme la plus adaptée pour ajuster une surface quadratique et donne de meilleurs coefficients d'estimation de la fonction de réponse [18]. Il a été rapporté que la CBB est plus efficace que le plan composite central et les plans factoriels complets à trois niveaux [21]. Elle est plus rapide, précise et fiable, ce qui permet d'économiser du temps et de l'argent [22]. Ces plans répondent à un critère d'optimisation d'isovariance par rotation qui stipule que l'erreur de prédiction de réponse est la même pour tous les points d'une sphère (ou d'une hypersphère) centrée à l'origine du domaine expérimental [23]. Différents procédés biotechnologiques sont optimisés grâce à cette technique [24–30]. Dans la présente étude, nos efforts se sont concentrés sur l'optimisation du processus d'hydrolyse acide de la CCC en utilisant une conception de Box-Behnken à trois facteurs pour une libération optimale des SR.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal (cosse vide et poudre de cosse) est montré à la figure 1, provient de la récolte de cacao dans la région de Soubré (sud-ouest de la Côte d'Ivoire).

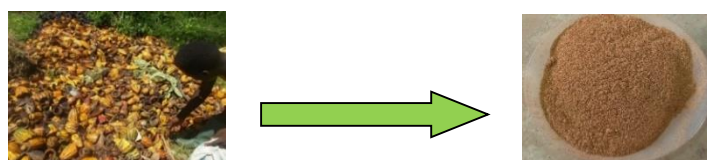


Figure 1 : Les cabosses de cacao (fraîches et en poudre) utilisées dans la présente étude

2.2. Produits chimiques et solvants

Les produits chimiques et les solvants étaient de qualité analytique et ont été utilisés comme tels.

2.3. Méthodes

2.3.1. Récolte du matériel

Les cabosses de cacao mûres ont été récoltées dans une plantation du village de Balodougou (Soubré), située dans la région de la Nawa (Sud-Ouest, Côte d'Ivoire) entre les latitudes 5°47'22.14348"N et 5°50'1.1742"N et les longitudes 6°32'50.60112"W et 6°35'38.16492"O. Chaque gousse a été coupée en deux parties pour éliminer les graines pulpeuses et le mucilage. La CCC a ensuite été lavée abondamment à l'eau, puis hachée grossièrement à l'aide d'un couteau en acier inoxydable.

2.3.2. Composition chimique des coques de cabosses de cacao

Les extractibles ont été éliminés selon la procédure décrite par Poursat (2015) [31]. La teneur en cendres est déterminée selon la norme NF V 03-909. La quantité de lignines insolubles dans l'acide a été déterminée par gravimétrie selon la procédure adoptée par le Laboratoire National des Énergies Renouvelables (NREL) [32]. L'holocellulose a été déterminée selon la norme ASTM D 1104-56. La cellulose a été isolée de l'holocellulose après dissolution des hémicelluloses dans une solution alcaline diluée [33]. La teneur en hémicellulose a été obtenue par différence.

2.1. Optimisation du procédé d'hydrolyse

2.1.1. Substrat

Le substrat dépourvu d'extractibles a été délignifié dans des conditions suivantes : 1% KOH pendant 4 heures à température ambiante et 15 min d'autoclavage à 128 °C sous un ratio biomasse/solvant de 9,143 %. La saccharification à l'acide sulfurique dilué a été réalisée dans des flacons *SCOTT* autoclavables de 250 mL à 121 °C, selon une conception expérimentale.

2.1.2. Conception expérimentale de Box-Behnken (CBB)

Une conception de *Box-Behnken* à trois facteurs et trois niveaux a été utilisée pour optimiser les conditions d'hydrolyse. Les variables indépendantes étaient, le temps d'autoclavage (X_1), le ratio biomasse/solvant (X_2) et la concentration d'acide (X_3) comme mentionné dans le tableau 1

Tableau I : Variables codées et niveaux réels utilisés dans le plan de Box Behnken

Variables	Symboles codés	Niveaux codés		
		-1	0	1
Temps (min)	X_1	15	30	45
Concentration du solvant (% p/v)	X_2	1	4	7
Ratio biomasse/solvant (% p/v)	X_3	4	7	10

Cette conception génère un modèle de régression polynomiale du second ordre. La relation entre les valeurs réelles et codées a été décrite par la formule 1.

$$\mathbf{x_i} = \frac{\mathbf{x_i - X_0}}{\Delta X_i} \quad (1)$$

Où x_i et X_i sont respectivement, les valeurs codées et réelles de la variable indépendante, X_0 est la valeur réelle de la variable indépendante au point central et ΔX_i est la variation de X_i . La réponse (la teneur en SR) est calculée à partir de l'équation 2 à l'aide du logiciel *Design Expert (version 11, Stat-Ease, Minneapolis, MN)*.

$$Y = b_0 + \sum b_i X_i + \sum \sum b_{ij} X_i X_j + \sum b_{ii} X_i^2 \quad (2)$$

Où b_0 est l'effet moyen, b_i les effets principaux, b_{ij} les effets d'interactions d'ordre 2, b_{ii} les effets quadratiques et X_i et X_j les variables codées.

2.4.3. Neutralisation de l'hydrolysate acide

Après refroidissement, l'hydrolysate d'origine a été neutralisé par addition lente de pastilles d'hydroxyde de sodium, puis filtré à travers un papier filtre Whatman pour éliminer tout précipité formé.

2.4.4. Estimation des sucres réducteurs (RS)

Les SR ont été estimés à l'aide de l'acide dinitrosalicylique (3,5-DNS) (Miller (1959)) [32] en utilisant un spectrophotomètre UV-visible (UV/VIS Jasco V-530) à une longueur d'onde de 540 nm.

2.4.5. Ajustement du modèle et analyse statistique

Le logiciel Design Expert 11, Stat-Ease, Minneapolis, MN a été utilisé pour générer les données expérimentales et a permis le développement du modèle de régression polynomiale. La qualité de l'ajustement du modèle de régression a été exprimée par des coefficients de régression (R^2) et la signification statistique de la variable de réponse (% de SR) a été déterminée par le test de Fisher, la valeur F, la valeur p et le test t (ANOVA) avec un niveau de confiance de 95 % (probabilité $p < 0,05$). La zone de réponse et les courbes polynomiales ont été évaluées pour estimer le modèle ainsi que les meilleurs niveaux pour ajuster l'équation polynomiale du second ordre.

2.4.6. Validation du modèle

La validation du modèle a été basée sur l'analyse des erreurs calculées et du coefficient de détermination (R^2) entre les résultats prédits et ceux obtenus expérimentalement.

3. Résultats et discussions

3.1. Composition chimique des cosses de cabosses de cacao

Le tableau 2 montre la composition lignocellulosique de la CCC, riches en glucides et pourraient être des candidats alternatifs pour la production de biomolécules. Cependant, la comparaison des résultats de cette étude avec ceux observés dans différentes études a montré plusieurs disparités.

Tableau II : Lignocellulose de CPH dans diverses études

Lignine (%)	Cellulose (%)	Hémicellulose (%)	Références
24,16	28,25	16,75	[33]
33,96	30,41	11,97	[34]
18,19	23,04	38,08	[35]
34,82	44,69	11,15	[36]
25,62	30,68	15,67	Présente étude

En effet, la distribution des composants lignocellulosiques n'est pas uniforme dans les parois cellulaires de la biomasse végétale et la composition de la biomasse varie considérablement entre les espèces en fonction du type de cellule ou en fonction des conditions environnementales [32]. Ces différences pourraient être liées à des facteurs géographiques, aux méthodes d'analyse différentes ou à des périodes de collecte différentes ainsi qu'à des conditions climatiques [9]. Cependant, ces valeurs sont supérieures

à celles obtenues dans d'autres études [35]. La teneur en cellulose était proche de celle rapportées [34]. Ces CPH, ont donc un énorme potentiel de valorisation. Néanmoins, en raison de leur teneur relativement élevée en lignine (25,62 % ± 4,32 %), un processus de délignification et d'hydrolyse sont nécessaires pour une libération optimale des sucres fermentescibles.

3.2. Optimisation du procédé d'hydrolyse acide du CPH

Une série de 15 expériences, dont trois essais au centre ont été réalisées selon le plan expérimental présenté dans le tableau 3, y compris les résultats obtenus pour les SR.

Tableau III : Matrice expérimentale et résultats de la teneur en SR

Facteur 1		Facteur 2		Facteur 3		Réponse
Essais A: Temps		B: Ratio biomasse/solvant		C: Concentration du solvant (H ₂ SO ₄)		SR
	(min)		(%)		(%)	(g/L)
1	45		4		4	12,58
2	30		10		1	7,76
3	15		10		4	16,56
4	15		7		7	14,31
5	30		4		7	10,03
6	15		4		4	8,81
7	30		7		4	17,85
8	45		7		1	3,76
9	30		7		4	16,57
10	30		4		1	3,02
11	30		7		4	15,59
12	45		10		4	13,56
13	45		7		7	13,78
14	30		10		7	16,57
15	15		7		1	3,76

La teneur la plus élevée en SR (17,85 g/L) a été observée, lorsque le traitement a été réalisé en 30 min avec un ratio biomasse /solvant de 7 % (p/v) et une concentration d'acide de 4 %. De même, la plus faible teneur en SR (3,02 g/L) a été observée à l'essai 10, lorsque l'hydrolyse a été réalisée à très faible concentration en acide, même si le temps de réaction et le rapport biomasse/solvant sont relativement élevés. On peut donc observer que l'hydrolyse de l'holocellulose nécessite une température élevée, et s'effectue à une concentration élevée et un temps relativement long. Les résultats ont été soumis à une analyse de variance à l'aide du logiciel *Design Expert* à un niveau de confiance de 95 % (p = 0,05).

3.3.1. Équation du modèle suggéré

L'équation de régression générée par le logiciel *Design Expert* traduit la teneur en SR (Y) en fonction des variables indépendantes et leurs interactions linéaires et quadratiques. Elle est représentée par

l'équation en termes codés du modèle, qui a été utile pour évaluer l'impact relatif des facteurs en comparant leurs coefficients. Par défaut, les niveaux hauts sont codés +1, et les niveaux bas sont codés -1. Les variables, ayant des coefficients positifs, contribuent à une amélioration de la réponse lorsque le niveau est élevé, tandis que les coefficients négatifs ont l'effet inverse.

$$Y = +16.67+0.03 A+2.50B+4.55 C-1.69 AB-0.133 AC+0.45 BC-2.12 A^2-1.67 B^2-5.65 C^2 \quad (3)$$

3.3.2. Analyse de variance (ANOVA) pour le modèle quadratique suggéré

Selon le tableau 5, la valeur p du modèle est de $0,0007 < 0,0500$, avec une valeur $F = 31,27$, ce qui implique que le modèle est significatif. Il n'y a que 0,07 % de chances qu'une valeur F aussi élevée puisse se produire en raison du bruit. De plus, la valeur F d'absence d'ajustement de 1,00 implique qu'elle n'est pas significative par rapport à l'erreur pure. Un manque d'ajustement non significatif est souhaité. En outre, les valeurs p des termes B, C, AB, A^2 , B^2 , C^2 sont toutes significative à 95%.

Tableau V : Analyse statistique du modèle quadratique proposé

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	361,00	9	40,11	31,27	0,0007	Significant
A-Time	0,0072	1	0,0072	0,0056	0,9432	
B-Biomass to solvent Ratio	50,05	1	50,05	39,02	0,0015	
C-Solvent concentration	165,53	1	165,53	129,05	< 0,0001	
AB	11,46	1	11,46	8,93	0,0305	
AC	0,0702	1	0,0702	0,0548	0,8243	
BC	0,8100	1	0,8100	0,6315	0,4628	
A^2	16,56	1	16,56	12,91	0,0157	
B^2	10,36	1	10,36	8,08	0,0362	
C^2	117,87	1	117,87	91,89	0,0002	
Residual	6,41	5	1,28			
Lack of Fit	3,84	3	1,28	0,9977	0,5359	Not significant
Pure Error	2,57	2	1,28			
Cor Total	367,41	14				

3.3.4. Influence des variables indépendantes sur le processus d'hydrolyse

Des tracés de surface de réponse tridimensionnels ont été générés pour trouver l'optimum de chaque facteur qui maximise la teneur en SR (figure 3). La figure 3a montre que la concentration en acide influence plus la teneur en SR, suivie du rapport biomasse/solvant.

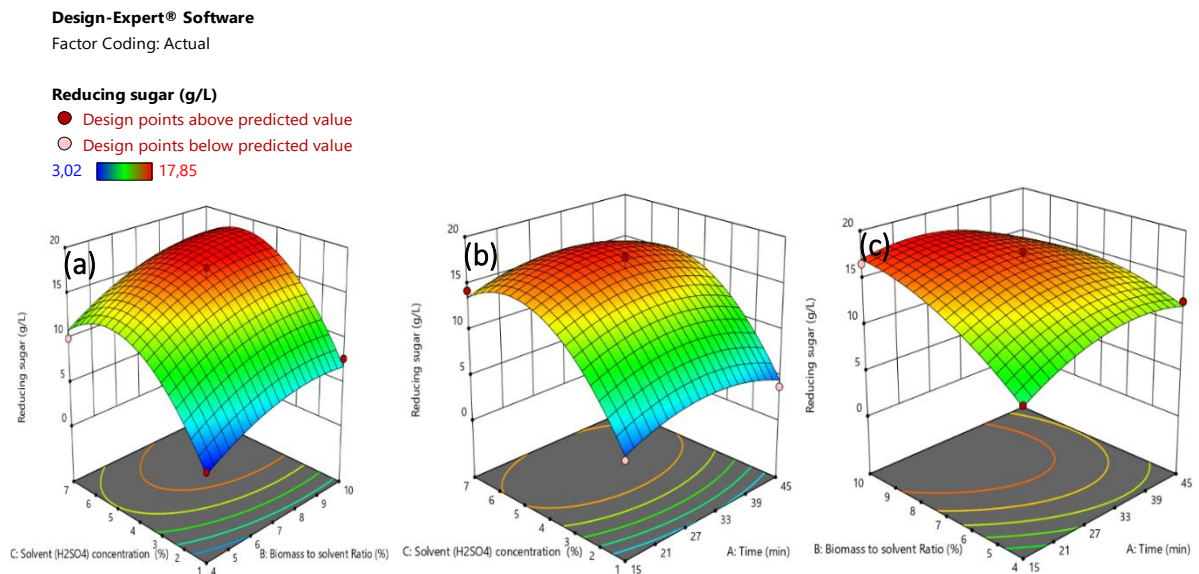


Figure 3 : Tracé 3D de surface montrant l'effet des variables indépendantes sur la teneur en sucre réducteur de la CCC

En outre, cette teneur augmentait linéairement avec ce ratio, avec une dépendance quadratique avec la concentration en acide, jusqu'à 17,50 g/L pour une concentration de 6% (v/v) d'acide, suivie d'une diminution. Cette tendance a déjà été observée [25]. Cependant, l'augmentation simultanée de ces deux facteurs semble avoir peu d'influence sur la réponse, compte tenu du faible effet positif du coefficient de leur interaction ($p > 0,05$). La figure 3 b illustre l'effet du temps et de la concentration de solvant sur la réponse. Cette figure montre un faible effet positif du temps sur SR. L'augmentation de la teneur en SR avec l'augmentation de la concentration en acide était prédominante à la température de l'autoclave (121 °C). En effet, à haute température, la cellulose devient plus accessible à l'hydrolyse. Cette tendance a déjà été rapportée dans d'autres travaux [2, 27]. Cependant, une augmentation simultanée de ces deux facteurs est défavorable à la saccharification, au regard du coefficient de leur interaction dans l'équation 3. Cela pourrait être dû à la dégradation ou à la déshydratation de la xylose en composés inhibiteurs de fermentation en aval ; comme les acides faibles, les dérivés furaniques et les composés phénoliques [17], lors d'une exposition prolongée à une forte concentration en acide. Selon la figure 3 c une augmentation de ce rapport entraîne une augmentation de la production de SR.

3.3.5. Conditions optimales d'hydrolyse

Les meilleures conditions obtenues à la fin de la présente étude étaient de 29,49 min pour le temps d'autoclavage avec un ratio biomasse/ solvant de 9,46 (% p/v), une concentration en acide de 4,78 (% p/v) ce qui a donné une teneur maximale de 18,19 g/L de sucres, pour une désirabilité de 1. Le temps

optimal était conforme aux observations de certains auteurs [18], qui ont montré qu'un temps supérieur à 30 min provoque la destruction des sucres en composés inhibiteurs de fermentation.

3.3.6. Validation du modèle

La corrélation entre la teneur en SR observée et prédite sur l'hydrolyse acide du CCC était de 0,90. Les valeurs observées ont été comparées à celles prédites par le modèle de second ordre, indiquant une excellente corrélation entre ces valeurs, avec un pourcentage d'erreur inférieurs à 5 %. Par conséquent, le modèle est précis et l'analyse de la méthodologie de surface de réponse peut être une technique utile pour prédire et optimiser l'hydrolyse acide du CPH.

4. Conclusion

La concentration d'acide a montré l'effet le plus significatif suivi du rapport biomasse/solvant. La teneur en SR a montré une dépendance quadratique avec la concentration en acide mais augmente linéairement avec le rapport biomasse/solvant. Il est donc possible de produire 18,53 g/L de sucres fermentescibles pendant seulement une période d'autoclavage de 29,49 min avec un ratio biomasse/solvant de 9,46 % (p/v) en utilisant un 4,78 % (v/v) d'acide. De plus, la comparaison de la teneur en sucre de l'échantillon délignifié et hydrolysé dans les conditions optimales (18,19 g/L), a montré une nette amélioration de la saccharification par rapport à celle de l'échantillon brut hydrolysé (5,33 g/L). Ainsi, il a été prouvé que l'optimisation du procédé d'hydrolyse acide, après une délignification appropriée, pouvait améliorer la libération des sucres fermentescibles.

5. Bibliographie

- [1] Doiseau A-C (2015) Déshydratation catalytique du xylose en furfural. Thèse de Doctorat, Claude Bernard Lyon 1
- [2] Shet VB, Rakshith KG, Shetty NJ, et al (2019) The application of Response Surface Methodology for the Optimization of Autoclave assisted HCl Hydrolysis of an Agro residue Cocoa Pod Shells for Releasing Reduced Sugars. *J Microbiol Biotechnol Food Sci* 9:548–551. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2019/20.9.3.548-551>
- [3] Montipó S, Pedroso GB, Bevilaqua DB, et al (2016) Building Block Lactic Acid from Rice Husks and Agave Bagasse. *Waste Biomass Valorization* 7:1495–1507. <https://doi.org/10.1007/s12649-016-9554-9>
- [4] Arevalo-Gallegos A, Ahmad Z, Asgher M, et al (2017) Lignocellulose: A sustainable material to produce value-added products with a zero-waste approach—A review. *Int J Biol Macromol* 99:308–318. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.02.097>
- [5] Chen H, Liu J, Chang X, et al (2017) A review on the pretreatment of lignocellulose for high-value chemicals. *Fuel Process Technol* 160:196–206
- [6] Samah, O.A., Sias, S., Hua, Y.G., Hussin, N.N.: Production of Ethanol from Cocoa Pod Hydrolysate. *ITB J Sci.* 43 A, 87–94 (2011)
- [7] Statista (2019) Fèves de cacao : production mondiale par pays 2016-2019. In: Statista. <https://fr.statista.com/statistiques/565101/production-mondiale-feves-cacao-volume-par-pays/>. Accessed 11 Apr 2020
- [8] ICCO (2019) International Cocoa Organization (ICCO). In: Int. Cocoa Organ. ICCO. <https://www.icco.org/about-us/icco-news/408-may-2019-quarterly-bulletin-of-cocoa-statistics.html>. Accessed 10 Sep 2020
- [9] Ouattara LY, Kouassi EKA, Soro D, et al (2021) Cocoa Pod Husks as Potential Sources of Renewable High-Value-Added Products: A Review of Current Valorizations and Future Prospects. *BioResources* 16:1988–2020. <https://doi.org/10.15376/biores.16.1>. Ouattara

- [10] Campos-Vega R, Nieto-Figueroa KH, Oomah BD (2018) Cocoa (*Theobroma cacao* L.) pod husk: Renewable source of bioactive compounds. *Trends Food Sci Technol* 81:172–184. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.09.022>
- [11] Cruz G, Pirilä M, Huuhtanen M, et al (2012) Production of Activated Carbon from Cocoa (*Theobroma cacao*) Pod Husk. *Civ Environ Eng* 2:1–6
- [12] Saleem A, Hussain A, Chaudhary A, et al (2020) Acid hydrolysis optimization of pomegranate peels waste using response surface methodology for ethanol production. *Biomass Convers Biorefinery*. <https://doi.org/10.1007/s13399-020-01117-x>
- [13] Razola-Díaz M del C, Verardo V, Martín-García B, et al (2020) Establishment of Acid Hydrolysis by Box–Behnken Methodology as Pretreatment to Obtain Reducing Sugars from Tiger Nut Byproducts. *Agronomy* 10:477. <https://doi.org/10.3390/agronomy10040477>
- [14] Mosier N, Hendrickson R, Ho N, et al (2005) Optimization of pH controlled liquid hot water pretreatment of corn stover. *Bioresour Technol* 96:1986–1993. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.01.013>
- [15] Muharja M, Junianti F, Ranggina D, et al (2018) An integrated green process: Subcritical water, enzymatic hydrolysis, and fermentation, for biohydrogen production from coconut husk. *Bioresour Technol* 249:268–275. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.10.024>
- [16] Palmqvist E, Hahn-Hägerdal B (2000) Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. I: inhibition and detoxification. *Bioresour Technol* 74:17–24. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(99\)00160-1](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(99)00160-1)
- [17] Demirel F, Germec M, Turhan I (2021) Fermentable sugars production from wheat bran and rye bran: response surface model optimization of dilute sulfuric acid hydrolysis. *Environ Technol* 1–22. <https://doi.org/10.1080/09593330.2021.1934563>
- [18] Ghazanfar M, Irfan M, Nadeem M (2018) Statistical modeling and optimization of pretreatment of *Bombax ceiba* with KOH through Box–Behnken design of response surface methodology. *Energy Sources Part Recovery Util Environ Eff* 40:1114–1124. <https://doi.org/10.1080/15567036.2018.1474291>
- [19] Assadpour E, Jafari S-M (2017) Spray drying of folic acid within nano-emulsions: Optimization by Taguchi approach. *Dry Technol* 35:1152–1160. <https://doi.org/10.1080/07373937.2016.1242016>
- [20] Ferreira SLC, Bruns RE, Ferreira HS, et al (2007) Box-Behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods. *Anal Chim Acta* 597:179–186. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.07.011>
- [21] Cabas Candama MA, Duque Martinez S, Cadena Chamorro EM (2020) Optimization of Enzymatic Pretreatments to Obtain Fermentable Sugars from Fruit and Vegetable Waste. *Waste Biomass Valorization* 11:5991–6002. <https://doi.org/10.1007/s12649-019-00821-8>
- [22] Goupy J (2006) LES PLANS D'EXPERIENCES. *Rev Modul* 74–116
- [23] Shet VB, Shetty VC, Siddik A, et al (2018) Optimization Of Microwave Assisted H₂SO₄ Hydrolysis Of Cocoa Pod Shells: Comparison Between Response Surface Methodology And Artificial Neural Network And Production Of Bioethanol Thereof. *J Microbiol Biotechnol Food Sci* 7:473–477. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2018.7.5.473-477>
- [24] Ouattara LY, Soro D, Fanou GD, et al (2022) Optimization of the Autoclave-Assisted Alkaline Delignification of Cocoa (*Theobroma cacao*) Pod Husks Using KOH to Maximize Reducing Sugars. *BioResources* 17:826–848. <https://doi.org/10.15376/biores.17.1>
- [25] John I, Pola J, Appusamy A (2019) Optimization of Ultrasonic Assisted Saccharification of Sweet Lime Peel for Bioethanol Production Using Box–Behnken Method. *Waste Biomass Valorization* 10:441–453. <https://doi.org/10.1007/s12649-017-0072-1>
- [26] John I, Pola J, Thanabalan M, Appusamy A (2019) Bioethanol Production from Musambi Peel by Acid Catalyzed Steam Pretreatment and Enzymatic Saccharification: Optimization of Delignification Using Taguchi Design. *Waste Biomass Valorization*. <https://doi.org/10.1007/s12649-018-00565-x>
- [27] Anita SH, Fitria, Solihat NN, et al (2019) Optimization of Microwave-Assisted Oxalic Acid Pretreatment of Oil Palm Empty Fruit Bunch for Production of Fermentable Sugars. *Waste Biomass Valorization*. <https://doi.org/10.1007/s12649-018-00566-w>
- [28] Perwitasari U, Agustina NT, Pangestu R, et al (2021) Cacao pod husk for citric acid production under solid state fermentation using response surface method. *Biomass Convers Biorefinery*. <https://doi.org/10.1007/s13399-021-01690-9>
- [29] Poursat A (2015) L'analyse des constituants chimiques du bois au sein de populations génétiques de *Peuplier noir* pour faire de la sélection d'individus pour des besoins de production énergétique. Institut Universitaire de Technologie d'Orléans, France
- [30] Sluiter A, Hames B, Ruiz R, et al (2012) Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass. National Renewable Energy Laboratory (NREL), Denver West Parkway (USA)
- [31] Bourahli MEH (2018) Caractérisation d'un composite verre / époxy. Thèse de Doctorat, FERHAT ABBAS-SETIF 1
- [32] Miller GL (1959) Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal Chem* 31:426–428

- [33] Shet VB, Varun C, Aishwarya U, et al (2018) Optimization of reducing sugars production from agro-residue coconut leaflets using autoclave-assisted HCl hydrolysis with response surface methodology. *Agric Nat Resour* 52:280–284. <https://doi.org/10.1016/j.anres.2018.09.015>
- [34] Sandesh K, Shishir RK, Vaman Rao C (2020) Optimization and comparison of induction heating and LPG assisted acid pretreatment of cocoa pod for ABE fermentation. *Fuel* 262:116499. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2019.116499>
- [35] Titiloye JO, Bakar MSA, Odetoye TE (2013) Thermochemical characterisation of agricultural wastes from West Africa. *Ind Crops Prod* 47:199–203
- [36] Asiedu NY, Neba FA, Addo A (2019) Modeling the attainable regions for catalytic oxidation of renewable biomass to specialty chemicals: Waste biomass to carboxylic acids. *South Afr J Chem Eng* 30:1–14. <https://doi.org/10.1016/j.sajce.2019.07.003>

Evaluation de la qualité microbiologique des pâtisseries commercialisées dans la ville de Man (Côte d’Ivoire)

KOFFI Affoué Carole^{1}, ATOBLA Koua², KOFFI Ahua René³, KOFFI-NEVRY Rose⁴*

¹*Laboratoire Central d’Analyse Université de Man, UFR, Agronomie Forestière et Environnementale*

²*Laboratoire de Biotechnologie Agriculture et Valorisation des ressources Biologiques Université Félix Houphouët Boigny, UFR Biosciences*

³*Laboratoire de Microbiologie et Biotechnologie Centre de Recherche en Ecologie*

⁴*Laboratoire de Microbiologie et Biotechnologie Université Nangui Abrogoua, UFR Sciences et Technologie des Aliments*

*Courriel : e-mail : carole.koffi@univ-man.edu.ci / kofficar@yahoo.fr / tel : (+225) 0707096605

Résumé

La sécurité sanitaire des aliments constitue un problème majeur de toutes les industries agro-alimentaires. Ainsi, avec la pandémie de COVID-19, le problème devient plus crucial du fait qu’il est indispensable de préserver la santé et la sécurité de tous ceux qui travaillent dans la production alimentaire. Ce produit subit des transformations et des manipulations dont le consommateur ne connaît ni la nature ni les manipulateurs. Ainsi, les produits pâtisseries sont considérés comme des aliments sensibles et donc favorables à la croissance microbienne provoquant des toxi-infections alimentaires. La présente étude a consisté à évaluer la qualité microbiologique des pâtisseries dans la ville de Man (Côte d’Ivoire). L’analyse microbiologique a été réalisée par la technique de dilution décimale et selon plusieurs normes sur 24 échantillons dans deux grandes pâtisseries de la ville. Les analyses ont révélé que la Flore Mésophile Aérobie Totale (FMAT) est présente dans 50% des échantillons analysés dans la pâtisserie “ALI-BABA” et 75% dans la pâtisserie la “BRIOCHE,” Les germes *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *salmonella* sont absents dans tous les échantillons analysés pour les deux pâtisseries. Ainsi, ces produits pâtisseries ne sont pas totalement propres ; il est important d’analyser la qualité d’autres produits pâtisseries.

Mots clés: pâtisserie, qualité microbiologique, croissance microbienne

Evaluation of the microbiological quality of pastries marketed in the city of Man (Côte d’Ivoire)

Abstract

Food safety is a major problem for all agro-food industries. Thus, with the COVID-19 pandemic, the problem becomes more crucial because it is essential to safeguard the health and safety of all those who work in food production. This product undergoes transformations and manipulations of which the consumer knows neither the nature nor the manipulators. Thus, pastry products are considered to be

sensitive foods and therefore favorable to microbial growth causing food poisoning. The present study consisted in evaluating the microbiological quality of pastries in the city of Man (Côte d'Ivoire). The microbiological analysis was carried out by the decimal dilution technique and according to several standards on 24 samples in two large patisseries in the city. The analyzes revealed that the Total Aerobic Mesophilic Flora (FMAT) is present in 50% of the samples analyzed in the "ALI-BABA" pastry and 75% in the "BRIOCHE" pastry," *The Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *salmonella* germs are absent in all the samples analyzed for the two pastries. Thus, these pastry products are not completely clean; it is important to analyze the quality of other pastry products.

Keywords: pastry, microbiological quality, microbial growth

1. Introduction

La référence à la qualité dans les différentes acceptions est devenue omniprésente [1]. En restauration collective, le respect des principes d'hygiène constitue un enjeu vital car une insalubrité peut se manifester chez les consommateurs par des intoxications alimentaires. La qualité de l'alimentation perçue, renvoie à un ensemble complexe de qualités attendues, composé de six aspects : nutritionnels, fonctionnels, organoleptiques, sociaux, symboliques et sanitaires ; or, ces derniers ne sont pas les moindres. La qualité sanitaire des aliments renvoie à la sûreté chimique et bactériologique. Les pâtisseries, produits largement consommées et considérées comme un composant majeur dans le marché alimentaire international n'est pas en marge de ce constat [2]. La pâtisserie constitue un met de choix lors des occasions heureuses. La pâtisserie occupe ainsi, un taux de consommation élevé lors des occasions heureuses, elles font désormais partie intégrante de l'alimentation des populations. Les pâtisseries peuvent être utilisées comme source d'aliments énergétiques à haute densité. Le marché mondial de ces aliments particuliers croit actuellement d'environ 1,5% par an [3]. Il est donc bon d'avoir un aliment sain et nutritif pour préserver la santé du consommateur car le non-respect des règles d'hygiène et le contrôle peu efficace des produits alimentaires peuvent causer des maladies telles que des intoxications alimentaires qui ont pour symptômes les nausées, les vomissements, les douleurs abdominales, les crampes et la diarrhée [4].

Cependant, les produits pâtisseries (en particulier à la crème) en tant qu'aliments nutritifs riches en glucides, lipides, et protéines sont sensibles à la croissance de différents micro-organismes et à la transmission d'agents microbiens, qui sont soit des bactéries, des levures ou des moisissures [5]. Ainsi, la prévention de ces risques nécessite une analyse des produits pâtisseries destinés à la consommation humaine.

L'objectif général de ce travail est d'évaluer la qualité microbiologique de quelques échantillons de pâtisseries vendus dans la ville de Man

Les objectifs spécifiques sont :

- Dénombrer la flore mésophile aérobie totale,
- Dénombrer les germes *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* et *Escherichia coli*.

2. Matériel et méthodes

Matériel biologique

Le matériel d'étude est composé de plusieurs variétés de produits pâtisseries obtenus dans des différentes pâtisseries de la ville de Man (**Figure 1**).

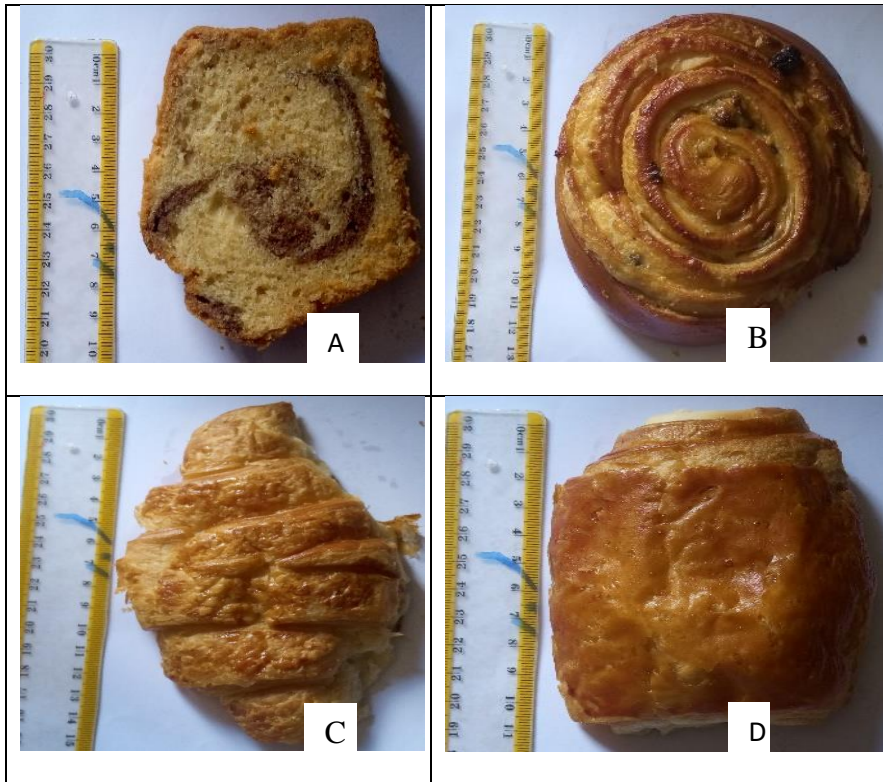


Figure 1 : Photographies des produits de pâtisseries

(A : Cake ; B : pain au raisin ; C : croissant ; D : pain au chocolat)

Matériel technique

Le matériel usuel de laboratoire de microbiologie a été utilisé pour la réalisation de ce travail.

Méthode

-Echantillonnage

20 échantillons de produit pâtisseries ont été prélevés selon la norme ISO 7218 au cours de la période de Mars à Mai 2021 dans la ville de Man. Dans chaque pâtisserie visitée, 10 échantillons de produits pâtisseries ont été prélevés. Un échantillon est composé de quatre unités de pâtisseries. Deux échantillons ont été prélevés par jour dans chaque pâtisserie. Les différents échantillons ont été prélevés dans des sachets stomacher et transportés au laboratoire dans une glacière pour les analyses microbiologiques.

-Préparation des dilutions décimales (Norme Française V08-010)

25 g de chaque produit de pâtisserie ont été ajoutés à 225 mL d'Eau Peptonnée Tamponnée (EPT) constituant la solution mère; puis mélangé et laissé au repos pendant 30 min à 1 h à la température du laboratoire pour assurer la revivification des germes. A partir de la solution mère, des dilutions décimales ont été effectuées jusqu' à la dilution 10^{-5} .

-Recherche et dénombrement des germes

-La recherche et le dénombrement de toutes les colonies de la FMAT ont été faits selon la Norme ISO 4833 : Février 2003 sur le milieu de culture PCA et incubés à 37°C pendant 24 h.

-Les *E. coli* ont été recherchés sur la gélose VRBL selon la Norme ISO 16649-2 : Avril 2001. Le dénombrement s'est fait après incubation à 44°C pendant 24 h.

-La recherche de *Staphylococcus sp.* a été effectuée selon la Norme ISO 6888-1: Juillet 2003. Le dénombrement des colonies a été fait sur le milieu Baird-Parker après incubation à 37°C pendant 48 heures.

-La recherche de *Salmonella* s'est effectuée selon la Norme ISO 6579/A1 : Juillet 2007.

Après la période d'incubation mentionnée dans la norme spécifique à chaque germe, le comptage des colonies caractéristiques pour chaque boîte contenant moins de 300 colonies et 30 colonies au minimum a été effectué.

-Interprétation des résultats

Les résultats des analyses microbiologiques ont été interprétés à partir des critères microbiologiques fixés par des normes algériennes. Ces critères d'appréciation sont définis par l'arrêté ministériel du 27 Mai 1998 et publié sur le Journal Officiel de la République Algérienne Démocratique et Populaire n°35 et présenté dans le tableau suivant :

Tableau I : Critères microbiologiques des pâtisseries et des crèmes pâtisseries

Germes	M	M
FMAT	$9 \cdot 10^5$	$3 \cdot 10^6$
<i>Staphylococcus aureus</i>	$3 \cdot 10^2$	10^3
Coliforme fécaux	10^2	$3 \cdot 10^2$
<i>Salmonella sp</i>	Abs/25g	

Pour la FMAT, *Staphylococcus aureus* et les coliformes fécaux à l'instar de *Escherichia coli*, l'interprétation des résultats se fait selon un plan à 3 classes :

- Si les résultats sont inférieurs ou égaux à **m** ($N \leq m$), le produit est « satisfaisant »
- Si les résultats sont supérieurs à **m** et inférieurs ou égaux à **M** ($m < N \leq M$), le produit est « acceptable »
- Si les résultats sont supérieurs **M** ($N > M$), le produit est « non satisfaisant ».

Pour *salmonella sp*, les résultats sont interprétés à partir d'un plan à 2 classes :

- Absence = « qualité satisfaisante »
- Présence = « qualité non satisfaisante »

3. Résultats et discussion

- Résultats

La charge moyenne de la FMAT, *Staphylococcus aureus*, *E. coli* et *salmonella sp* dans tous les échantillons prélevés (cakes, croissants, pains au chocolat et pains au raisin) dans les pâtisseries “ALI-BABA” et “la BRIOCHE ” sont présentées respectivement dans les **Tableaux II** et **III**.

Tableau II : Charge moyenne en FMAT, en *E. coli*, *S. aureus* et en *Salmonella* des produits pâtisseries “ALI-BABA”

Pâtisserie ALI-BABA								
Germes recherchés	FMAT (germes/g)		<i>E.coli</i> (germes/g)		<i>Staphylococcus aureus</i> (germes/g)		<i>Salmonella sp</i> (germes/g)	
	N	Inter	N	Inter	N	Inter	N	Inter
Cake	1,4.10 ⁴	S	00	S	00	S	00	S
Croissant	6,9.10 ³	S	00	S	00	S	00	S
Pain au raisin	00	S	00	S	00	S	00	S
Pain au chocolat	00	S	00	S	00	S	00	S

N : charge microbienne, Inter : interprétation

S : qualité satisfaisante par rapport aux normes algériennes

Tableau III : Charge moyennes en FMAT, *E. coli*, *Staphylococcus aureus* et *Salmonella sp* des produits pâtisseries “BRIOCHE”

Pâtisserie BRIOCHE				
Germes recherchés	FMAT (germes/g)	<i>E. coli</i> (germes/g)	<i>Staphylococcus aureus</i> (germes/g)	<i>Salmonella sp</i> (germes/g)

Produits	N	Inter	N	I	N	Inter	N	Inter
Cake	5.10 ³	S	00	S	00	S	00	S
Croissant	00	S	00	S	00	S	00	S
Pain au raisin	00	S	00	S	00	S	00	S
Pain au chocolat	00	S	00	S	00	S	00	S

N : charge microbienne, Inter : interprétation

S : qualité satisfaisante par rapport aux normes algériennes

Variation du niveau de contamination de germes des pâtisseries

➤ Flore Mésophile Aérobie Totale

Les produits de la pâtisserie “ALI-BABA” présente un taux de contamination de 50% et un taux d’absence de 50% vis à vis de la FMAT (**Figure 2**).

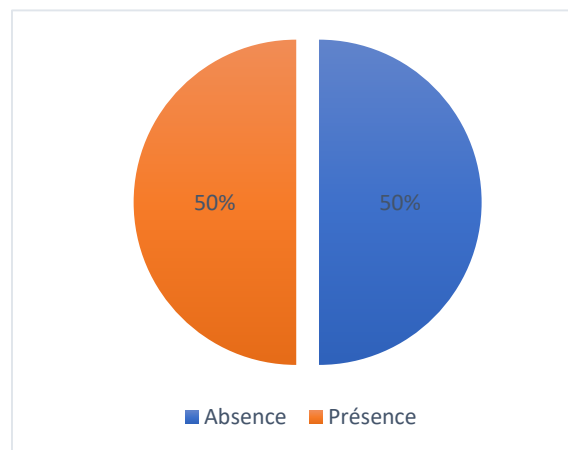


Figure 2 : Répartition des niveaux de contamination de la pâtisserie “ALI-BABA” par la Flore Mésophile Aérobie Totale.

Les produits de la pâtisserie “ la BRIOCHE ” présente un taux de contamination de 25% et un taux d’absence de 75%. (**Figure 2**).

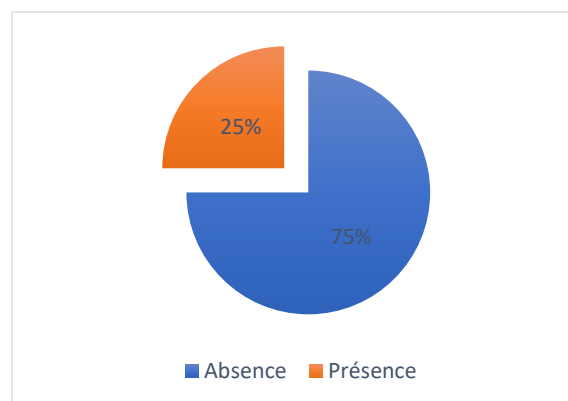


Figure 2 : Répartition des niveaux de contamination de la pâtisserie “la BRIOCHE” par la Flore Mésophile Aérobie Totale.

➤ *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Salmonella sp*

Dans tous les échantillons issus des pâtisseries “ALI-BABA” et “ la BRIOCHE ” qui ont été analysés, aucune présence de *E.coli*, *staphylococcus aureus* et *Salmonella sp* n’a été détectée.

- **Discussion**

Les produits de la pâtisserie “ALI-BABA” présente un niveau de contamination en FMAT de 50%, les produits contaminés sont les cakes et les croissants. La pâtisserie “ la BRIOCHE ” présente un taux de 25%, les produits contaminés sont les cakes. Cependant tous les échantillons analysés sont de qualité satisfaisante.

Ces résultats diffèrent de ceux obtenus par **Nour et Kabeb (2019) [6]** qui lors d’une étude sur des pâtisseries, ont trouvé que tous les échantillons étaient non satisfaisants concernant la Flore Mésophile Aérobie totale. La présence de la FMAT dans les échantillons analysés est sans doute due à l’environnement auquel sont exposés les produits, un défaut d’hygiène des procédés de fabrication tel que le retard lors de la préparation, au séjour prolongé des produits pâtisseries à la température ambiante ainsi que l’exposition à l’air libre. Ainsi, la FMAT dans un produit alimentaire reflète la qualité microbiologique générale du produit.

Ce germe peut donner une indication sur l’état de décomposition du produit et constitue de ce fait un indice de la qualité sanitaire [7].

Les pâtisseries “ALI-BABA” et “la BRIOCHE” présentent un taux de satisfaction de 100 % vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*. Ces résultats sont différents de ceux de **Nour et Kabeb (2019) [6]** qui ont trouvé un taux de non satisfaction de 20% lors d’une étude sur des pâtisseries au centre de la wilaya de Biskra concernant ce germe mais il est largement supérieur au résultat de **Meldrum et al. (2005) [8]** qui ont trouvé lors de leurs analyses, 0,1% de pâtisseries à la crème qui sont non satisfaisants vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*. Leur présence tient souvent de l’action des facteurs tels que le vent, la poussière et aussi la contamination d’origine humaine à travers les manipulations et les sécrétions.

Les échantillons de pâtisseries analysés pour les deux pâtisseries présentent un taux de satisfaction de 100% vis-à-vis de *Escherichia coli*. Ces résultats sont conformes à ceux trouvés par **Souti (2014) [9]**, mais différents des résultats de **Kindji (2008) [1]**, qui a trouvé un taux de non satisfaction de 5,48% concernant ce germe.

Le niveau de satisfaction des échantillons vis-à-vis de *salmonella sp* est de 100%. Ces résultats sont en concordance avec les résultats obtenus par **Sultan et al. (2010) [11]**, et **Nour et Kabeb (2009) [6]** qui ont trouvé des taux de contamination de 0 % concernant ce germe dans les pâtisseries, des villes d’Ispahan, et de la wilaya de Biskra. L’absence totale de *salmonella* dans l’ensemble des échantillons analysés, indique le respect des règles d’hygiène lors de la manipulation, et l’absence de ce germe dans les matières premières (lait œuf-crème...) qui sont la clé de transmission.

4. Conclusion

Au terme de notre analyse, il est important de retenir que les résultats obtenus pour tous les échantillons prélevés dans les pâtisseries 'ALI-BABA' et la Brioche dans la ville de Man présentent après dénombrement un taux de satisfaction de 50% vis-à-vis de la Flore mésophile aérobie totale, et 100% de satisfaction vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, de *Salmonelle* et d'*Escherichia. coli*.

Ce résultat nous permet d'affirmer que les produits pâtisseries issus des deux pâtisseries ne sont pas totalement propre par conséquent il est nécessaire de faire une sensibilisation sur les différents germes mise en évidence afin de limité ces contaminations

5. References bibliographiques

- [1]. **Kindji S. L. (2008)**. Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des pâtisseries et repas froids servis par Dakar Catering en 2006 et 2007. Mémoire de DEA de production animale, *Option : Qualité des aliments*, Université Cheikh Anta de Dakar, Sénégal, 31p.
- [2]. **Mamoumi H., Fikri H., Slimani R., Amarouche H., Moulay H. N., Zahouily M., Lazar S. (2012)**. Effet de la cuisson sur les caractéristiques physico chimiques et la qualité sanitaire des Biscuits, *Scientific Study et Research*, (13), PP.223-230.
- [3]. **Isiri. (2014)**. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Microbiological of pastry and confectionary products-Spécifications and test method. No. 2395.
- [4]. **Sharifzadeh A., Hajsharifi-Shahreza M., Ghasemi-Dehkordi P. (2016)**. Evaluation of microbial contamination and chemical qualities of cream-filled pastries in confectioneries of Chaharmahal Va Bakhtiari Province (Southwestern Iran). *Osong public health and research perspectives* 7(6): 346-350.
- [5]. **Smith J. P., Daifas D. P., El-khoury W., Koukoutsis J., El-khoury A. (2004)**. Shelf Life and Safety Concerns of Bakery Products—A Review, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 44(1): 19-55. Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI). 2014. Microbiological of pastry and confectionary products-Spécifications and test method. No. 2395.
- [6]. **Nour E. H. M. & Kabeb E. A. H. (2009)**. Mémoire master sur l'évaluation de la qualité microbiologique des pâtisseries commercialisées au centre de la Wilaya de Briska de microbiologie. Spécialité : microbiologie appliquée. 77 p.
- [7]. **Anihouvi V. B., Ayernor G. S., Hounhouigan J. d., Sakyi-dawson E. (2006)**. Caractéristiques de la qualité de Lanhouin : un produit de poisson traditionnellement traité et fermenté en république du Benin. *African journal of food, agriculture, nutrition and development*. Research Article ISSN: 1684-5358. EISSN : 1684-5374. Vol 6, No 1.
- [8]. **Meldrum R. J., Ribeiro C. D., Smith R. M. M., Walker A. M., Simmons M., Worthington D., Edwards C. (2005)**. Microbiological quality of ready-to-eat foods: results from a long-term surveillance program (1995 through 2003). *Journal of food protection* 68(8): 1654-1658.
- [9]. **Souti I., Karouaz. F. (2014)**. Evaluation de qualité bactériologique des pâtisseries commercialisées dans la wilaya de Constantine en 2013-2014. *Option : Microbiologie General et Biologie Moléculaire des microorganismes*. 85p.
- [10]. **Kindji S. L. (2008)**. Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des pâtisseries et repas froids servis par Dakar Catering en 2006 et 2007. Mémoire de DEA de production animale, *Option : Qualité des aliments*, Université Cheikh Anta de Dakar, Sénégal, 31p.
- [11]. **Sultan Dalal M., Fazelifard P., Tabatabai Befroee A., Rashidi S., Zarrin M. (2010)**. Determination of microbial contamination of fresh pastries supplies units in southern Tehran. *Scientific journal of microbial biotechnology* 2: 7-11.

Étude comparative de la teneur en silice dans les bières ivoiriennes et importées

KRAMO Michelle Nadège^{1,2}, KOUAME Victor¹, TIDOU Abiba Sanogo², JONAS Schoelynck³

¹Laboratoire des sciences de l'environnement, université Nangui Abrogoua, 02 BP 801 Abidjan02, Côte d'Ivoire

²Laboratoire Bio-Eco-Trop, Université Lorougnon Guédé, BP 150 Daloa

³Département de biologie, groupe de recherche sur la gestion des écosystèmes, université d'Anvers, universiteitsplein 1C,2610, Wilrijk, Belgique

Email : michellekramo@rocketmail.com

GT3 (ReSAOA) : Sciences agroalimentaire Ouest-Africain

Résumé :

La silice dissoute (Dsi) joue un rôle essentiel dans la formation et le maintien des os [1] mais sa teneur dans l'organisme diminue avec l'âge de 0,1 mg/an. Plusieurs auteurs se sont intéressés à la bière, qui, selon eux pourrait être la source majeure d'apport de Dsi à l'organisme [2,3]. En Côte d'Ivoire, la bière est fabriquée par certains peuples. Toutefois avec le développement, la production de la bière s'est industrialisée mais les consommateurs ont très peu d'informations sur l'effet bénéfique de la bière. Cette étude vise à déterminer les teneurs en silice dans les bières disponibles sur le marché ivoirien. Au total, 27 bières ont été collectées dont 13 bières importées. Les résultats montrent que les concentrations en Dsi dans l'ensemble des bières varient entre 4 et 35 mg/l. Il ressort de cette étude que la bière locale, le tchapalo et les bières importées contiennent plus de Dsi que les bières industrielles ivoiriennes. Aussi, la richesse en silice des bières importées est due aux ingrédients de base. Il conviendrait donc à l'avenir d'accroître le nombre de bières et d'utiliser des données médicinales pour comprendre l'apport de Dsi sur la santé des populations.

Mots clés : Silice dissoute, Bières, Tchapalo, Santé humaine

Comparative study of silica content in Ivorian and imported beers

Abstract

Dissolved silica (Dsi) plays an essential role in the formation and maintenance of bones [1], but its content in the body decreases with age by 0.1 mg/year. Several authors have focused on beer, which they believe could be the major source of Dsi in the body [2,3]. In Côte d'Ivoire, beer is made by some people. However, with development, beer production has become industrialized but consumers have very little information on the beneficial effect of beer. This study aims to determine the silica content in beers available on the Ivorian market. A total of 27 beers were collected, including 13 imported beers. The results show that the concentrations of Dsi in all the beers vary between 4 and 35 mg/l. It appears from this study that local beer, tchapalo and imported beers contain more Dsi than Ivorian industrial

beers. Also, the richness in silica of imported beers is due to the basic ingredients. In the future, it would be appropriate to increase the number of beers and to use medicinal data to understand the contribution of Dsi on the health of the populations.

Keywords: Dissolved silica, Beers, Tchapalo, Human health

Introduction

La silice, deuxième élément le plus abondant de la croûte terrestre est essentielle pour plusieurs organismes. Chez les plantes, elle favorise la rigidité de celles-ci et leur permet de lutter contre divers stress liés aux variations de température, de salinité, de disponibilité de l'aliment, à la toxicité des métaux [4, 5, 6, 7] etc. Certaines plantes comme les graminées (riz, sorgho, blé, mil...) en contiennent des quantités importantes. Chez les animaux, elle joue aussi un rôle important. En effet, il a été montré que des poussins recevant un complément de silice croissaient plus rapidement [8]. Chez l'homme, la silice est présente dans les cheveux, l'épiderme des poils et participe à la formation des os. Chez les femmes souffrant de l'ostéoporose, un complément de la silice permet d'accroître la densité des minéraux des os [1]. Elle protège le corps humain aussi de l'effet toxique de l'aluminium et intervient dans la prévention de la maladie d'Alzheimer [9,10]. Malheureusement, des études montrent que (pour des raisons encore mal comprises) sa teneur dans le corps humain diminue avec l'âge de 0,1 mg/an. Par ailleurs, l'organisme n'est pas aussi capable de stocker ou d'assimiler les formes minérales de la silice avec le poids de l'âge [2]. D'autres aliments comme la banane contiennent certes de la silice mais, cette silice est faiblement (5%) biodisponible [3]. Par contre, la silice est présente dans la bière sous forme soluble en acide orthosilicique. Dans cette forme, la biodisponibilité de la silice est > 50%. Par conséquent, la bière est considérée comme une source majeure de la silice dans l'alimentation des pays occidentaux.

En Côte d'Ivoire, la consommation de la bière faite à base de maïs, de sorgho et/ ou de mil n'est pas récente. Elle fait partie de la tradition de certains peuples du nord comme les Lobis, les Tagbanans et les Sénoufos. Toutefois avec le développement du pays, la fabrication de la bière s'est industrialisée et plusieurs bières sont aujourd'hui importées. La consommation de la bière aussi s'est considérablement accrue et n'est plus liée à un groupe ethnique. Nous avons donc initié ce travail de recherche afin de connaître la teneur de la silice dans l'ensemble des bières disponibles sur le marché ivoirien.

2-Matériel et méthodes

2-1 Matériel

Le matériel utilisé dans cette étude est composé de :

- Un automate de type SAN ++, Skalar, Breda pour l'analyse des échantillons ;
- Des flacons à scintillation de 20 ml pour la conservation des échantillons ;

- Des micropipettes nécessaires au prélèvement des échantillons.
- Des bières embouteillées et en canettes

2-2 Méthodes

Stratégie de collecte des bières

Les bières utilisées dans cette étude ont été achetées dans les différents points de vente dans la ville d'Abidjan. Elles se composent de 13 bières importées, 13 bières fabriquées en Côte d'Ivoire et du Tchapalo à base de Sorgho. Les caractéristiques de ces différentes bières sont indiquées dans les tableaux I et II. Au total, 15 bières en canettes et 12 bières embouteillées tandis que le Tchapalo peut être conservé dans une bouteille, dans unealebasse, dans un canari ou tout autre ustensile. La teneur en éthanol dans les bières échantillonnées variait de 0 à 7,5% en volume et la majorité (24) des bières sont alcoolisées. La majorité des bières de la Côte d'Ivoire sont faites à base de quatre éléments : Eau, malt, maïs et houblon.

Analyse des échantillons

Pour chaque bière, un sous échantillonnage a été réalisé et 10 ml ont été introduits dans des bouteilles à scintillation et conservés au réfrigérateur pour réduire au maximum le dégazage des gaz avant leur transport en Belgique où les analyses ont été effectuées. De façon pratique, l'analyse de la silice se base sur les méthodes classiques décrites par [11]. Cette analyse se fonde sur la formation de l'acide silicomolybdique lorsqu'il réagit au molybdate et sa réduction subséquente à un hétéropolyacide bleu, par addition d'acide ascorbique. L'interférence des phosphates est éliminée en ajoutant de l'acide oxalique [12]. Pour les analyses, 6 ml de chaque bière ont été filtrés sur des filtres à cellulose de 0,45 µm et les lectures ont été réalisées sur un automate de type SAN ++, Skalar, Breda. Les valeurs de silice dissoute (DSi) ont été exprimées en mg/L.

3-Résultats et discussions

3-1 Résultats

3-1-1 Variabilité de la silice dissoute dans les bières et caractéristiques des bières achetées

Tableau I : Concentration de la silice dissoute (mg/L) dans la bière de quelques pays[13, 14, 15]

Origine	Min (mg/L)	Max (mg/L)
Belgique	6,0	58,1
Royaume Unis	9,0	39,4
USA	6,4	58,9
Corée du sud	7,7	25,2
Tchèque	16,0	113,0

Tableau II : Caractéristiques des bières Ivoiriennes

Noms	Pays	Ingrédients	Conditionnement
IND ₁	Côte d'Ivoire	Eau, malt, maïs, houblon	Bouteille
IND ₂		Eau, malt, maïs, houblon	
IND ₃		Eau, malt, maïs, houblon	
IND ₄		Eau, malt, maïs, houblon	
IND ₅		Eau, malt, maïs, houblon	
IND ₆		Eau, malt, maïs, houblon	
IND ₇		Eau, malt, houblon	
IND ₈		Eau, malt, orge, orge torréfié, houblon, levure	
IND ₉		Eau, orge malté, houblon	
IND ₁₀		Eau gazéifiée, alcool, sucre, arômes (Cocktail de rhum, jus d'ananas, jus de noix de coco), régulateur d'acidité E330, agent conservateur E221	
IND ₁₁		Eau, malt d'orge, sucre, vitamine A	
Tchapalo		Eau, sorgho	Ustensiles divers
IND ₁₂	Eau, malt, houblon, sucre, vitamine B	Canette	

Tableau III : Caractéristiques des bières importées

Noms	Pays	Ingrédients	conditionnement
IMP ₁	France	Citron (eau gazeuse, sucre, arôme naturel, acide citrique, acide ascorbique, colorant: E150c), bière (eau, malt d'orge, extrait de houblon)	Bouteille
IMP ₂		Eau, malt d'orge, maïs, extrait de houblon, colorant: E150c	
IMP ₃		Eau, malt d'orge, extrait de houblon	
IMP ₄		Eau, levure, houblon, malt d'orge, limonade, acide ascorbique, couleurs	
IMP ₅		Eau, malt d'orge, extrait de houblon, colorant: E150c	Canette
IMP ₆		Eau, malt d'orge, blé, extrait de houblon, colorant caramel E150C	
IMP ₇	France	Eau, malt d'orge, malt de froment, arôme naturel, extrait de malt d'orge, extrait de houblon, coloration: caramel E150c	Canette
IMP ₈	Liban	Eau, orge malté, maïs, houblon, acide citrique E330, arôme naturel	Bouteille
IMP ₉	Allemagne	Eau, malt d'orge, sucre, CO ₂ , houblon, acide citrique E330 acidifiant, arôme naturel	

IMP ₁₀	Hollande	Eau, malt d'orge, maïs, extrait de houblon, colorant caramel E150C	Canette
IMP ₁₁	Turquie	Eau, malt, houblon, riz, CO ₂ , levure	
IMP ₁₂	Espagne	Eau, malt d'orge, maïs, houblon, couleurs	
IMP ₁₃	Allemagne	Eau, orge malt, extrait de houblon	
IMP ₁₄	Hollande	Eau, malt d'orge, extrait de houblon, sirop de glucose, acide citrique, arôme 75% de téquila	Bouteille

3-1-2 Teneurs en silice dissoute (Dsi)dans les bières ivoiriennes et importées

- **Teneurs en silice dissoute (Dsi) dans les bières ivoiriennes**

La figure 1 présente la concentration en silice dissoute (DSi) dans les bières ivoiriennes. La bière locale Tchapalo a la concentration en silice la plus élevée avec 25,9 mg/l. Celle-ci est suivie des bières IND₅ (22,9 mg/L), IND₁₁ (22,5 mg/L) et IND₉ (21,4 mg/L). La concentration en Dsi la plus faible est celle de la bière IND₁₀ avec 4 mg/L. Sur les 13 bières collectées, 9 bières ont des concentrations supérieures à 10 mg/L et 4 bières ont des concentrations inférieures à 10 mg/L.

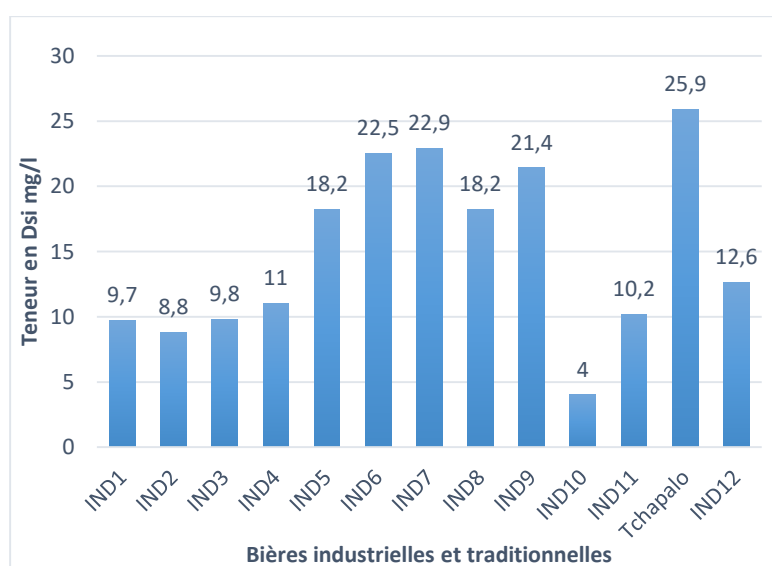


Figure 1 : Teneur en silice dissoute des bières ivoiriennes

- **Teneurs en Dsi dans les bières importées**

La teneur en Dsi des bières importées est présentée sur la figure 2. La bière IMP₉ enregistre la concentration en Dsi la plus élevée avec 35,1 mg/l suivie des bières IMP₁₀ avec 24,2 mg/l et IMP₅ 22 mg/L. La bière IMP₄ a la concentration en Dsi la plus faible (5,6 mg/L). Sur les 14 bières importées, 10 bières ont des concentrations supérieures à 10 mg/l et les concentrations des 4 autres sont inférieures à 10 mg/L.

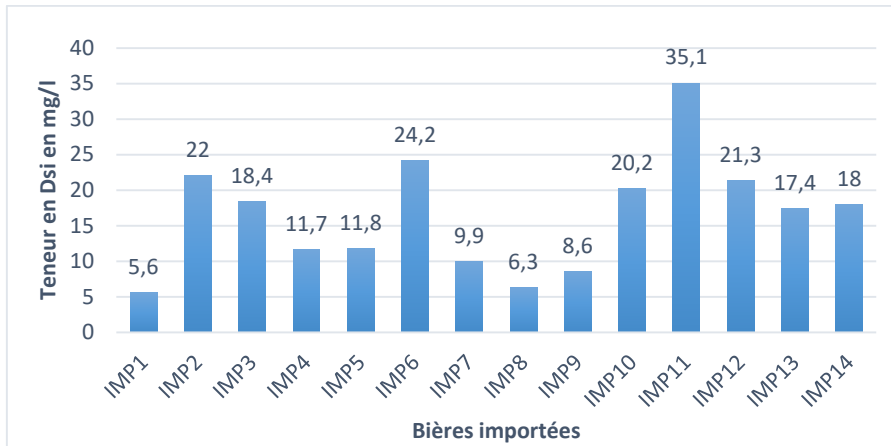


Figure 2 : Teneur en silice dissoute des bières importées

- **Variation de la teneur en Si en fonction du taux d'alcool dans les bières**

Ce graphique présente la variation de la teneur en Si en fonction du taux d'alcool (figure 5). On observe une large variabilité de la Si en fonction du taux d'alcool. La majeure partie des bières qui ont un taux d'alcool élevé ont également une teneur élevée de Si. Les bières qui ont un taux d'alcool nul, leur teneur en Si ne dépasse pas 10 mg/L.

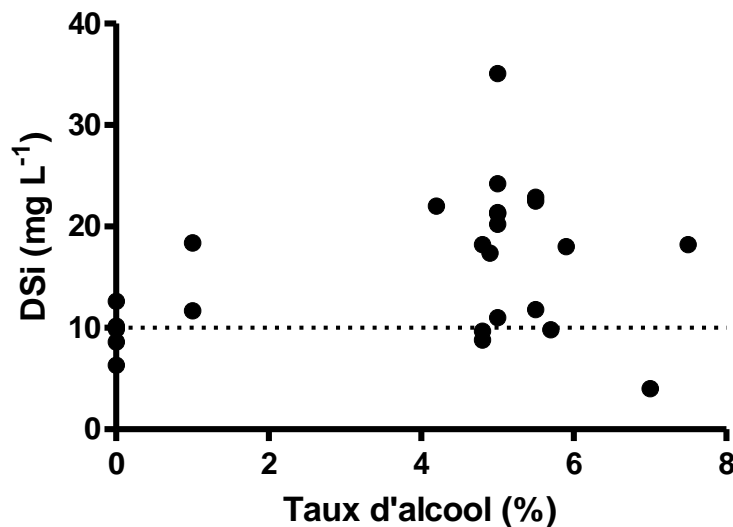


Figure 3 : Variation de la teneur en silice en fonction du taux d'alcool dans les bières consommées en Côte d'Ivoire

3-2 Discussion

Les concentrations de silice dissoute (DSi) obtenues dans les différentes bières consommées en Côte d'Ivoire sont similaires à celles observées dans d'autres régions du monde (Table I) et suggèrent que toutes les bières sont des sources de silice. Cependant, certaines en contiennent des quantités considérables. C'est le cas du Tchapalo à base de Sorgho qui contient plus de silice que les bières

industrielles de la Côte d'Ivoire confirmant ainsi l'idée selon laquelle les bières africaines seraient riches en silice [3]. En général, la teneur en alcool ainsi que le mode de fabrication de la bière jouent un rôle déterminant dans la concentration de la silice. Les bières produites par un processus de fermentation plus long contiennent des concentrations élevées de silice tandis que les bières conservées dans les cannettes ont moins de silice comparée à celles conservées dans les bouteilles [16]. Le taux d'alcool du Tchapalo reste inconnu et le mode de fabrication dépend beaucoup des régions ou des groupes ethniques. De même les moyens de conservation sont variables. Par conséquent, d'autres études devraient aider à comprendre les raisons des concentrations relativement élevées de DS_i observées dans le tchapalo. Il apparaît clair dans nos résultats que les bières à faible taux d'alcool, qui ont généralement un court processus de fermentation, sont aussi caractérisées par des faibles valeurs de DS_i. Une longue fermentation augmente le potentiel de la DS_i d'être libérée du blé, de l'orge, du malt et du houblon et même du riz dans la bière.

Il a été aussi suggéré que les bières en bouteilles auraient des concentrations plus élevées en DS_i comparées aux bières en cannette probablement à cause de la dissolution de la silice du verre dans la bière [16]. Cependant ces auteurs ont spécialement mentionné un petit nombre de bières dans leur étude. Nos données suggèrent en moyenne que les concentrations de la DS_i dans les cannettes sont plus élevées que dans les bouteilles et semblent être en accord avec les travaux de **Schoelynck et al** [13].

La majorité des bières fabriquées en Côte d'Ivoire sont constituées essentiellement de maïs et du houblon contrairement aux bières importées qui elles se composent de l'orge et du houblon. L'orge est particulièrement riche en silice et les bières brassées à partir de cette dernière contiennent des concentrations élevées de DS_i [13].

Sur l'ensemble des bières étudiées, la bière d'origine turquoise avait la teneur la plus élevée en Si (35,1 mg/L) compte tenu du fait que cette bière contient outre le malt et le houblon, du riz. Or, le riz est connu comme une plante particulièrement accumulatrice de silice en comparaison aux autres graminées telles que le maïs, le sorgho, le mil, l'orge, etc. Selon **Ma et al** [17] la teneur en Si peut aller jusqu'à 10 % du poids sec des pousses dans le riz. Par ailleurs, la faible concentration de DS_i observée dans la bière IND₁₀ est liée à l'absence de céréales et du houblon dans la fabrication de cette dernière.

4-Conclusion et perspectives

Ce travail a permis de confirmer l'existence de la silice dans la plupart des bières consommées en Côte d'Ivoire. Toutefois, les concentrations de la DS_i sont variables d'une bière à une autre. La bière locale telle que le Tchapalo à base de sorgho contient plus de silice que les bières industrielles populaires ivoiriennes. De plus, le Tchapalo ne contient aucun produit conservatif à comparer aux bières industrielles. Dans l'ensemble, les bières importées semblent contenir plus de DS_i par rapport aux bières fabriquées en Côte d'Ivoire compte tenu du fait que la plupart des bières ivoiriennes sont fabriquées à base de maïs qui contient moins de silice que l'orge ou d'autres graminées. Parmi, les bières étudiées,

une bière importée d'origine Turque contient plus de silice à cause de la présence du riz dans ses ingrédients de fabrication.

Ces premières données de la silice dans les bières de Côte d'Ivoire sont relativement limitées (27 bières seulement ont été analysées). Il conviendra dans l'avenir d'accroître ce nombre en sillonnant plusieurs villes du pays pour voir si la conservation n'a pas d'incidence sur les concentrations de silice dans ces bières. De plus, dans cette étude nous avons montré que le Tchapalo à base de Sorgho était riche en silice. Il serait intéressant d'étendre cette étude à plusieurs régions du pays et à d'autres types de Tchapalo (à base de maïs ou de mil) compte tenu de la diversité des modes de fabrication du Tchapalo et des moyens de conservations. Finalement, une étude comparative avec des données médicinales serait vitale pour comprendre l'apport de la silice sur la santé de la population.

Références bibliographiques

- [1] Jugdaohsingh R., 2007, Silicon and bone health. *Journal of Nutrition, Health & Aging*, 11 (2): 99-110.
- [2] Sripanyakorn S., Jugdaohsingh R., Elliot H., Walker C., Mehta P., Shoukru S., Thompson R.P.H., Powell J.J., 2004, The silicon content of beer and its bioavailability in healthy volunteers, *British journal of nutrition*, 91(3):403-409.
- [3] Casey T.S., Bamforth C.W., 2010, Silicon in beer and brewing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, DOI: 10.1002/JSFA.3884.
- [4] Hodson M.J., White P.J., Mead A., Broadley M.R., 2005, Phylogenetic variation in the silicon composition of plants, *Annals of Botany*, 96 (6): 1027-1046.
- [5] Schoelynck J., Groote T.D., Bal K.D., vandenbruwaene w., Meire P., Temmerman S., 2012, Self-organised patchiness and scale-dependent bio-geomorphic feedbacks in aquatic river vegetation, *ecography*, 35(8):760-768.
- [6] Schoelynck J., Struyf E., 2016, Silicon in aquatic vegetation, *Functional ecology*, 30(8): 1323-1330.
- [7] Struyf E., Mosimane K., Van Pelt D., Murray-Hudson M., Meire P., Frings P., Wolski P., Schaller J., Gondwe M. J., Schoelynck J., Conley D. J., 2014, The Role of Vegetation in the Okavango Delta Silica Sink. *Wetlands*: DOI 10.1007/s13157-014-0607-1.
- [8] Carlisle E.M., 1972, Silicon: an essential element for the chick, *Science*, 178: 619-621.
- [9] Jugdaohsingh R., Reffitt D.M., Oldham C., Jour J.P., Fifield L.K., Thompson R.P., Powell J.J., 2000, Oligomeric but not monomeric silica prevents aluminum absorption in humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, 71 (4): 944-949.
- [10] Krausová I., Cejnar R., Jan Kučera J. and Dostálek P., 2014, Impact the brewing process of the concentration of silicon in lager beer, *Journal of Institute of Brewing*, 120(4):433-437.
- [11] Grasshoff K., Ehrhardt M., Kremling K., 1983, Methods seawater analysis, *Verlag Chemie, Weinheim*.
- [12] Koné Y. J. M., Abril G., Kouadio K. N., Delille B., Borges A. V., 2009, Seasonal Variability of Carbon Dioxide in the Rivers and Lagoons of Ivory Coast (West Africa), *Estuaries and Coasts*, 32:246–260.
- [13] Schoelynck J., Beauchard O., Jacobs S., Bal K., Barão L., Smis A., Van Bergen J., Vandevenne F., Meire P., Van der Spiet T., Cools A., Van Pelt D., Hodson M.J., Struyf E., 2013. Dissolved silicon and its origin in Belgian beers-A multivariate analysis, *Silicon*, 5: 3-12.
- [14] Lee J., Choi K. H., Park S. R., Shin S.A., and Jang K., 2013, Silicon content in beers from Korea Market and Estimation of its Alimentary Uptake, *Czech Journal of food Sciences*, 31(4): 382-389
- [15] Cejnar R., Mestek O., Dostalek P., 2013, Determination of silicon in Czech beer and its balance during the brewing process, *Czech Journal of Food Sciences*, 31:166-171.
- [16] Robberecht H., Van Cauwenbergh R., Van Vlaslaer V., Hermans N., 2009, Dietary silicon intake in Belgium: sources, availability from foods, and human serum levels. *Sciences of The Total Environment*, 407:4777–4782.
- [17] Ma J.F., Takahashi E., 2002, Soil, fertilizer, and plant silicon research in japan, *Elsevier Science*, 294p.

Influence du régime hydrique et de la fertilisation sur la production de deux variétés de tomates (*solanum lycopersicum* L) cultivées dans la commune de Diabo, région du Gbeke

Kouassi Ndri Jacob ¹ **Angoua Kouamé Cyrille** ² **Kouame N’guessan** ³ et **Kouadio Yatty Justin** ³

Laboratoire d’Amélioration de la Production Agricole, UFR Agroforesterie, Université Jean Lorougnon GUEDE (UJLoG), BP 150 Daloa, Côte d’Ivoire.

GT3 (ReSAOA) : Sciences agroalimentaires Ouest-Africain

*Auteur correspondant ; E-mail : kouassindriajacob@yahoo.fr; Tel : (+225) 0748667448

Résumé

Le déficit hydrique et l’infertilité du sol sont les principaux facteurs limitant de la production agricole en Côte d’Ivoire. Il est donc important d’optimiser les apports d’eau et de fertilisants en fonction des besoins réels de la culture. Deux variétés de tomates (améliorée et locale), trois types de fertilisants : fiente de volaille, sciure de bois et la fertilisation minérale et trois régimes hydriques ont été appliqués (un arrosage 7, 5 et 3 fois par semaine R7, R5 et R3). L’expérimentation a été réalisée dans un dispositif en bloc aléatoire complètement randomisé avec trois répétitions dans le village de yomian kouadiokro situé dans la commune de Diabo. Les différents paramètres agronomiques mesurés ont été soumis aux analyses statistiques. Le régime hydrique a un effet significatif sur les paramètres agronomiques de la tomate. Les valeurs les plus élevées ont été obtenues avec le régime R7. La fiente de volailles a donné les fortes moyennes. IL ressort des analyses que la variété locale a présenté une meilleure croissance lorsqu’elle est cultivée sur une parcelle supplémentée avec la fiente de volaille et bénéficiant d’un arrosage régulier (R7).

Mots clés : tomate, Régime hydrique, fertilisants, rendement.

Influence of water regime and fertilization on the production of two varieties of tomatoes (*solanum lycopersicum* L) grown in the commune of diabo, gbèkè region

Abstract

Water deficit and soil infertility are the main factors limiting agricultural production in Côte d’Ivoire. It is therefore important to optimize water and fertilizer inputs according to the real needs of the crop. Two varieties of tomatoes (improved and local), three types of fertilizers: poultry droppings, sawdust and mineral fertilization and three water regimes were applied (watering 7, 5 and 3 times a week R7, R5 and R3). The experiment was carried out in a completely randomized random block device with three repetitions in the village of yomian kouadiokro located in the commune of Diabo. The various agronomic parameters measured were subjected to statistical analyses. The water regime

has a significant effect on the agronomic parameters of tomato. The highest values were obtained with the R7 diet. Poultry manure gave high averages. It appears from the analyzes that the local variety showed better growth when it is grown on a plot supplemented with poultry manure and benefiting from regular watering (R7).

Keywords: tomato, water regime, fertilizers, yield.

1. Introduction

La tomate (*solanum lycopersicom L.*) est le légume le plus consommé au monde. Cependant le développement de la culture de tomate, à l'instar des autres cultures maraichères dans nos régions tropicales, est en difficultés. La forte pression parasitaire ajoutée à l'irrégularité des pluies et d'autre part à l'appauvrissement du sol en matières organiques, qui réduisent fortement les productions. En effet, la plupart des agriculteurs utilisent l'engrais minéral onéreux comme fertilisant qui à long terme manifestent des effets négatifs sur l'environnement et la santé humaine [1]. À l'opposé des engrais chimiques, les amendements organiques aux sols pauvres et acides permettent de fournir les éléments nutritifs nécessaires à la croissance et à la production des plantes cultivées [2]. Dans un tel contexte, la fertilisation organique devrait constituée des solutions appropriées pour la restauration de la fertilité des sols. L'irrégularité des pluies qui se manifeste par le stress hydrique affecte plusieurs variables de fonctionnement de la plante, telles que la conductance stomatique, la surface foliaire, ainsi que la photosynthèse [3]. Ces perturbations physiologiques se traduisent par une réduction de la croissance végétative des différents organes [4] et une diminution du nombre et du volume d'organes, graines ou fruits [5]. Les teneurs en amidon, protéines et huile ainsi qu'en glucide sont aussi affectées [6]. Face à ces menaces, il apparaît plus que nécessaire de trouver des solutions qui visent à la préservation de la santé humaine et de l'environnement. Il faut, donc, mettre en place des techniques culturales qui réduiraient l'utilisation des produits chimiques et un programme d'adaptation de la culture de la tomate en situation de sécheresse. L'objectif principal de cette étude vise à déterminer la fréquence d'arrosage adéquate pour l'amélioration de la production de la tomate à travers l'usage de la fertilisation organique.

2. Matériels et méthodes

2.1. Description de la zone d'étude

L'étude a été réalisée à Yomian Kouadiokro, village situé dans la commune et sous-préfecture de Diabo, dans le département de Botro, dans la région de Gbêkê, au centre de la Côte d'Ivoire. Ce site a pour coordonnées 7°49'58,9'' de latitude nord et 5°9'54'' de longitude ouest. La ville de Diabo est située à 5 km au sud de Yomian Kouadiokro et à 15 km de Bouaké. Elle a une superficie de 143 km² pour une population estimée à 26272 habitants. Le climat de la région de Gbêkê est de type subéquatorial ou baouléen avec quatre saisons. La grande saison sèche s'étend de novembre à Février et la petite saison

sèche de juillet à Aout. La petite saison de pluie se situe entre Septembre à octobre et la grande saison de pluie de mars à juillet. La température de la zone varie entre 25° et 38° en moyenne .la végétation est dominée par la savane arborée. Le sol est de type ferrallitique. Les précipitations moyennes annuelles varient entre 1200 mm et 1600 mm.

2.2. MATÉRIEL

2.2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué d'une variété améliorée de tomate appelée PADMA 108 F1 et une variété locale obtenue à travers une collecte au niveau du marché public de Diabo.

2.2.2. Matériel fertilisant

Dans le cadre de cette étude, la fiente de volaille utilisée a été collectée dans les fermes environnantes, la sciure de bois dans les scieries. Les engrais chimiques ou minéraux ont été achetés sur le marché de Diabo, La fertilisation minérale en culture de tomate a été menée par des applications de l'engrais chimique NPK 12 22 22.

2.3. Méthodes

2.3.1. Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental utilisé est un bloc de Fischer complètement randomisé avec trois (03) répétitions. L'étude a été réalisée sur une superficie de 204 m² (34 m x 6 m). Dans chaque bloc de 69 m² (23 m de long et 3 m de large), une parcelle élémentaire fait 5 m² (5 m x 1 m). Les différents fertilisants (fiente de volaille : FV, Sciure de bois : SB, NPK : fertilisant chimique et Témoin : Te) à l'intérieur des planches ont été enfouis manuellement à l'aide d'une daba et à chaque fertilisant, deux planches ont été assignées par variété (amélioré et locale). Les deux premiers blocs ont été recouvert d'une bâche transparente sous un appâtâmes tandis que le troisième a été laissé à l'air libre. Les trois blocs ont reçu un régime hydrique différent. Les deux premiers ont reçu respectivement un arrosage 5 fois/semaine (R5) et 3 fois/semaine (R3), alors que le troisième bloc a reçu un arrosage quotidien (7 fois/semaine).

2.3.2. Collecte des données

Dans le cadre de cette étude, deux catégories de paramètres ont été mesurés sur les plantes conduites en essai : les paramètres végétatifs et les paramètres du rendement qui sont renseignés dans le tableau. Cependant les données ont été relevées sur 10 plants de façon aléatoire de chaque unité expérimentale et par variété. Les paramètres étudiés sont la hauteur de la plante (Hau), le nombre de ramification (Ram), l'envergure (Env), le nombre de fruit (NFr) et le poids de fruit (PFr).

2.2.3. Analyse statistique

Toutes ces données ont été traitées avec le logiciel statistique STATISTICA version 7.1. Pour chaque variable étudiée, les moyennes ont été comparées en prenant en compte les régimes hydriques,

les doses de fertilisants et les variétés à travers une analyse de la variance à 3 facteurs (ANOVA 3). La signification du test a été déterminée en comparant la probabilité (P) associée à la statistique au seuil $\alpha = 0,05$. Lorsqu'une différence significative a été observée entre les caractères, l'ANOVA a été complétée par le test de la Plus Petite Différence Significative (PPDS). La PPDS permet de voir les groupes homogènes.

3. Résultats et Discussion

3.1. Résultats

3.1.1. Effets du régime hydrique sur les paramètres agro-morphologiques.

L'analyse statistique révèle que tous les paramètres étudiés en fonction du régime hydrique présentent des valeurs de P inférieur à 0,05 ($P < 0,05$). Le régime hydrique a un effet significatif sur les paramètres agro-morphologiques de la tomate. Les valeurs les plus élevées ont été obtenues avec le régime R7 pour toutes les variables. Tandis que le régime R3 a présenté les valeurs les plus faibles (Tableau I)

Tableau I: Effet du régime hydrique sur les paramètres agro-morphologiques de la tomate

Variables	Moyennes (\pm Ecart - types)			Statistiques	
	R7	R5	R3	F	P
Hau (cm)	47,60 \pm 7,24 ^a	35,20 \pm 6,17 ^b	22,28 \pm 6,32 ^c	11,63	<0,0001
Ram	24,71 \pm 3,23 ^b	15,61 \pm 2,90 ^b	9,91 \pm 3,02 ^b	1,62	0,0009
Env (cm)	23,10 \pm 1,95 ^a	14,26 \pm 1,94 ^b	10,05 \pm 2,09 ^b	6,18	0,0004
NFr	62,95 \pm 37,62 ^a	52,83 \pm 49,75 ^b	37,67 \pm 49,70 ^c	0,96	0,0006
PFr (kg)	114,86 \pm 2,93 ^a	8,70 \pm 3,25 ^b	3,47 \pm 3,19 ^c	1,00	<0,0001

Les valeurs portant les mêmes lettres sur la ligne sont statistiquement égales ; **Hau** : Hauteur de la plante ; **Ram** : Ramification ; **Env** : Envergure de la plante ; **Nfr** : Nombre de fruit ; **Pfr** : Poids de fruit. **R7** : arrosage 7 fois par semaine ; **R5** : arrosage 5 fois par semaine ; **R3** : arrosage 3 fois par semaine.

3.1.2. Comparaison des paramètres agro-morphologiques en fonction des différents types de fertilisation

Les données du **Tableau II** montrent que toutes les variables étudiées présentent des effets significatifs sur les paramètres agro-morphologiques de la tomate ($P < 0,05$). Les quatre (04) fertilisants ont présentés des différences significatives pour la hauteur de la plante, le nombre de ramification, l'envergure de la plante, le nombre de fruit et le poids des fruits. La fiente de volailles a donné les fortes moyennes. Les faibles valeurs ont été obtenues avec les fertilisants témoins et sciures de bois.

Tableau II: Comparaison des fertilisants sur les paramètres agro-morphologiques

Variables	Moyennes (\pm Ecart - types)				Statistiques	
	FV	SB	NPK	T	F	P
Hau (cm)	39,36 \pm 4,98 ^a	30,96 \pm 7,21 ^c	34,53 \pm 7,57 ^b	32 \pm 6,44 ^c	7,23	0,0001
Ram	16,83 \pm 2,33 ^a	13,61 \pm 3,18 ^b	14,61 \pm 3,21 ^b	13,58 \pm 2,95 ^b	7,81	<0,0001
Env (cm)	15,33 \pm 1,82 ^a	11,88 \pm 1,99 ^b	12,75 \pm 1,75 ^b	11,91 \pm 2,22 ^b	7,68	<0,0001
N Fr	62,63 \pm 56,50 ^a	33,75 \pm 35,00 ^d	50,20 \pm 40,73 ^b	47,36 \pm 45,6 ^c	4,13	0,0070
P Fr (g)	8,88 \pm 3,17 ^a	3,02 \pm 2,17 ^b	8,80 \pm 3,46 ^a	4,01 \pm 2,588 ^b	1,00	0,0015

Les valeurs portant les mêmes lettres sur la ligne sont statistiquement égales ; **Hau** : Hauteur de la plante ; **Ram** : Ramification ; **Env** : Envergure de la plante ; **Nfr** : Nombre de fruit ; **Pfr** : Poids de fruit ; **FV** : Fiente de Volaille ; **SB** : Sciure de Bois ; **NPK** : engrais minéral ; **T** : Témoin.

3.1.3. Comparaison de deux variétés de tomates

L'analyse de la variance au niveau de la variété présente des différences significatives ($P < 0,05$) sur les paramètres agro-morphologiques. La variété locale à donner les fortes moyennes pour la hauteur (40,09 \pm 4,18), le nombre de ramification (20,35 \pm 2,33), l'envergure (17,50 \pm 0,96), le nombre de fruit (84,06 \pm 40,29) et le poids des fruits (6,07 \pm 2,73) (**Tableau III**)

Tableau III : comparaison des deux variétés de tomates sur les paramètres agro-morphologiques de la tomate

Variables	Moyennes (\pm Ecart - types)		Statistiques	
	VA	VL	F	P
Hau (cm)	31,30 \pm 8,12 ^b	40,09 \pm 4,18 ^a	32,95	<0,0001
Ram	13,47 \pm 3,41 ^b	20,35 \pm 2,33 ^a	24,66	<0,0001
Env (cm)	12,44 \pm 2,72 ^b	17,50 \pm 0,96 ^b	0,049	0,0003
NFr	12,90 \pm 9,00 ^b	84,06 \pm 40,29 ^a	356,44	<0,0001
PFr (g)	3,28 \pm 2,86 ^b	6,07 \pm 2,73 ^a	0,984919	<0,0001

Les valeurs portant les mêmes lettres sur la ligne sont statistiquement égales ; **Hau** : Hauteur de la plante ; **Ram** : Ramification ; **Env** : Envergure de la plante ; **Nfr** : Nombre de fruit ; **Pfr** : Poids de fruit ; **VA** : Variété Améliorée ; **VL** : Variété Local

3.2. Discussion

L'analyse de la variance réalisée pour comparer les résultats de notre travail ont montré que tous les paramètres étudiés ont été influencés par la fréquence d'arrosage, la fertilisation et la variété de la tomate. Les résultats de la fréquence d'arrosage ont relevé les valeurs les plus élevées avec l'arrosage quotidien (R7). Cela pourrait s'expliquer par le fait que l'arrosage tous les jours augmente le potentiel hydrique du sol [7]. En conséquence, ce qui favoriserait une disponibilité en eau pour les racines et un meilleur développement de la plante. Cependant, les faibles valeurs obtenues avec l'arrosage irrégulier (arrosage trois fois et cinq fois dans la semaine) pour toutes les variables étudiées, seraient dues au

déficit hydrique. Cela pourrait s'expliquer par la réduction de la croissance normale des plants et la chute des fleurs avec l'application du stress hydrique. Des travaux effectués à l'INRA en 2006, ont montré qu'un déficit hydrique après fécondation réduit la taille des organes et il en résulte une réduction du nombre de grains, qui aura un effet sur le rendement, même si les conditions hydriques redeviennent favorables. Nos travaux ont montré que tous les paramètres étudiés ont été influencés par la fertilisation. La matière organique constitue une source de nutriments qui s'appuie sur des processus biologiques de décomposition. Ce processus par lequel les éléments nutritifs essentiels sous des formes non disponibles sont convertis en leurs formes inorganiques qui sont disponibles pour être utilisées par des plantes en croissance s'appelle la minéralisation. Cette matière organique selon [8], joue un rôle important dans le sol et s'avère favorable à la croissance des micro-organismes qui induisent une activation de la solubilisation des éléments nutritifs. Les éléments nutritifs rendus suffisamment disponibles au fil du temps dans le sol sont efficacement utilisés par les plantes cultivées. En effet, ces auteurs ont montré que le taux de décomposition de la matière organique et la croissance des plantes était étroitement lié à la synchronisation entre la libération des nutriments et leur assimilation par la plante. Les valeurs les plus grandes obtenues avec la fertilisante fiente de volailles (FV) seraient dues à la minéralisation continue ainsi qu'à la libération des éléments nutritifs à la plante durant son cycle de vie. Les fientes de volailles sont facilement décomposables [9] permettant au complexe absorbant de fixer et libérer facilement les éléments nutritifs. De même, [10] sont parvenus au fait que l'application à court et moyen termes de fientes de volailles augmenterait l'azote total et phosphore assimilable. Les valeurs enregistrées au niveau des fertilisants Sciure de bois et l'engrais minéral sont statistiquement identiques au témoin dans le cas de cette étude et sont peu moins que l'engrais organique à base de fiente de volailles. En effet, les engrais minéraux sont des substances d'origine minérale, produites par l'industrie chimique, ou par l'exploitation de gisements naturels. Ces éléments minéraux mis à la disposition de la plante sont utilisés jusqu'à leur rupture. Ils ne sont donc pas mis à la disposition de la plante de manière continue et leur déficit dans le sol influence la fin du cycle de développement. Les auteurs comme [11] sur le gombo et [12] sur l'igname, ont rapporté que l'utilisation combinée de la fiente de volaille et de l'engrais minérale améliore considérablement la croissance par rapport à l'application de chaque fertilisant séparément. Le faible rendement obtenu avec la sciure de bois s'expliquerait par la non décomposition de la matière organique issue de ces fertilisants. En effet, la sciure de bois est très difficile à être digérée par les microorganismes ce qui retarderait l'accessibilité des racines aux éléments nutritifs du sol [13]. Par ailleurs, [14] ont montré que le taux de la décomposition de matière organique et l'augmentation des rendements étaient étroitement liés à la synchronisation entre la libération des nutriments et leur assimilabilité par la plante. La sciure de bois n'a pas pu se décomposer normalement pour libérer les éléments minéraux nécessaires pour la croissance de la plante. Par conséquent, les plantes ayant reçu ces fertilisants se comportent comme le témoin. Cette étude a aussi révélé que toutes des variables ont été influencées par l'effet variété et que la variété avec laquelle on a obtenu les plus grandes valeurs sur l'ensemble des variables est la variété locale. Ce résultat s'expliquerait par le fait

que la variété locale a une adaptation aux conditions pédoclimatiques de la combe de Diabo. Cette différence pourrait être aussi due aux caractéristiques génétiques de chaque espèce. Selon [15], les écarts des rendements observés entre les deux variétés peuvent se justifier par les caractéristiques génétiques propres à chaque variété.

4. Conclusions

Au terme de ce travail portant sur l'influence du régime hydrique et de la fertilisation organique sur la production de deux variétés de tomates. Il ressort que le meilleur résultat au niveau de ces variables s'observe avec un arrosage quotidien. La variété adéquate pour un bon épanouissement végétatif et du rendement de la tomate est la variété locale. Nos travaux ont montré que le fertilisant fiente de volailles reste donc recommandé pour les cultures à besoin immédiat de fertilisants, car cela augmente le niveau de richesse des éléments majeurs et améliore ainsi le niveau structural et texture du sol. Dans le but d'approfondir notre connaissance, il serait souhaitable de vérifier le comportement physiologique des plantes de tomate vis à vis du stress hydrique.

5. Bibliographies

- [1]. Sawadogo, M., Balma, D., Nana R. & Sumda R. M. T. L. (2009). Diversité agro-morphologique et commercialisation du Gombo (*Abelmoschus esculentus* L.) à Ouagadougou et ses environs. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 3 (2) :326-336.
- [2]. Kasongo L.E., Mwamba MT., Tshipoya MP., Mukalay MJ., Useni SY., Mazinga KM. & Nyembo KL. (2013). Réponse de la culture de soja (*Glycine max* L. (Merril) à l'apport des biomasses vertes de *Tithonia diversifolia* (Hemsley) A. Gray comme fumure organique sur un Ferralsol à Lubumbashi, R.D. Congo. *Journal of Applied Biosciences*, 63, 4727-4735.
- [3]. Nuhu Y. & Mukhtar F.B. (2013). Screening of some cowpea genotypes for photosensitivity. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, 6 (2): 31 -34.
- [4]. Koffi A., Brou L., Kpangni B., Sylla M., Tapé C. & Moustapha. P. (2009). Evaluation approfondie de la sécurité alimentaire des ménages ruraux en Côte d'Ivoire. Programme alimentaire mondial, Bureau de pays, Côte d'Ivoire, 79 p.
- [5] N'Kouannessi M. (2005). The genetic morphological and physiological evaluation of African Cowpea genotypes. Thesis presented for the degree Magister Scientiae Agriculturae at the university of the Free State, Bloemfontein, South Africa, 131p.
- [6]. Kouassi. P. (2005). Contribution à l'étude de l'entomofaune du gombo (*Abelmoschus* spp.) Incidence économique. Mémoire de DEA d'Ecologie Tropicale (Option Animale) Université Felix Houphouët Boigny d'Abidjan, Côte d'Ivoire, 41 p.
- [7]. Rasmata NANA*, Gérard ZOMBRE, Zoumbiessé TAMINI & Mahamadou SAWADOGO (2009). Effet du régime hydrique sur les rendements du gombo en culture de contre-saison. *Sciences & Nature* Vol. 6 N°2 : 107 - 116
- [8] Ojetayo AE, Olaniyi JO, Akanbi WB, Olabiyi TI. Effect of fertilizer types on nutritional quality of two cabbage varieties before and after storage. *Journal of Applied Biosciences*. 2011 ; 48 : 3322– 3330.
- [9]. Ferdinand Gohi Bi Zro, Jacob N'Dri Kouassi, Damien Hebert Akré Abobi, Valère Kotchi and Konan Jean-Francois Essy (2018). Effects of Planting Density and Manure on Maize (*Zea mays* L.) Agronomic Parameters in Bouaké, Côte d'Ivoire. *Journal of Agriculture and Ecology Research International*. 14(4): 1-9.
- [10]. Dean D. S, Earl C. S, Raymond EK. (2000). Irrigation management for corn in the northern Great Plains, USA. *Irrigations Sciences*, 19:107-114.
- [11]. Olaniyi JO, Akanbi WB, Olaniran OA, Ilupeju OT. (2010). Effect of organic, inorganic and organominerals on growth, fruit yield and nutritional composition of okra (*Abelmoschus esculentus*). *Journal of Animal and Plant Sciences*.; 9 (1): 11135 - 11140.
- [12]. Dibi EBK, Kouame N, N'Goran EK, Kouakou MA, Kouame JMY, Essis BS, Boni N. Response of the Yam Variety Krengle (*Dioscorea rotundata*) to Organo-mineral Fertilisation at Bouaké in Central of Côte d'Ivoire. *Journal of Agricultural Science*. 2021 ; 13 (6) : 123-135

- [13]. Miquel S. (1985). Plantules et premiers stades de croissance des espèces forestières : l'amélioration. Thèse Doctorat, Institut National Agronomique. Paris-Grignon, (France).180p
- [14]. Cobo J.G., Barrios E., Kaas D.C.L. & Thomas R. (2002). Nitrogen mineralization and crop uptake from surface applied leaves of green manure species on a tropical volcanic –ash soil. *Biology and Fertility of soils*, 36 :87-92
- [15]. Kouassi Joseph KOUAKOU, Manéhonon Martine BEUGRE, Kouassi N'dri Jacob et Jaures Jean YAO (2020). Influence du régime hydrique sur les performances agronomiques de quatre variétés de gombo. *Afrique SCIENCE* 16 (5) 284 – 291.

Evaluation de la biodisponibilité de composés (vitamines, triglycérides, cholestérol) chez des rats après consommation de l'huile de palme rouge.

YOBOUE Béhibolo Antoinette épse GNAGO^{1*}, GOLY Kouassi Roselin Cyrille¹, TIAHOU Gnomblésson Georges¹, ASSIDJO Nogbou Emmanuel²

1 Université Alassane Ouattara (UAO), Laboratoire de Biochimie Médicale, Unité de Formation et de Recherche Médicale, Bouaké, BP v 18 Bouaké 01, Côte d'Ivoire

Institut National Polytechnique Houphouët-Boigny (INP-HB), UMRI 58, Laboratoire des Procédés Industriels, de Synthèse et de l'Environnement, Yamoussoukro BP 1093 Yamoussoukro, Côte d'Ivoire

[*yobouebantoinette@gmail.com](mailto:yobouebantoinette@gmail.com)

Groupe thématique 3(ReSAOA) : Sciences agroalimentaires

Résumé :

L'huile de palme est l'huile végétale la plus produite et consommée au monde. Elle contient 50 % d'acide gras saturés et 50 % d'acide gras insaturés. Elle est une source majeure de composés mineurs tels que les caroténoïdes et la vitamine E, indispensable à la santé humaine. Ainsi, une étude de la biodisponibilité par dosage quantitatif des vitamines A et E, des triglycérides et du cholestérol chez des rats wistars durant 12 heures de digestion de l'huile de palme rouge a été réalisée. Les résultats ont révélé d'une part, une variation de la biodisponibilité des triglycérides (0,17 – 10,41 g/L) et du cholestérol total (0,12 – 1,61 g/L). Et d'autre part, celle du cholestérol HDL (0,09 – 0,53 g/L), LDL (0,007 – 1,71 g/L), des vitamines A (1,52 – 53,90 %) et E (0,02 – 27,33 %). En définitive, ces différents composés sont biodisponibles après consommation de l'huile de palme rouge. Toutefois, le taux de LDL cholestérol au cours des 12 heures de digestion de l'huile de palme rouge est inférieur au seuil (2,5 g/L) décrivant un risque d'hypercholestérolémie. L'un des axes souhaitables serait d'effectuer une étude de biodisponibilité en utilisant l'huile de palme raffinée qui est la plus consommée en Côte d'Ivoire.

Mots clés : biodisponibilité, huile de palme

Abstract :

Evaluation of the bioavailability of compounds (vitamins, triglycerides, cholesterol) in rats after consumption of red palm oil

Palm oil is the most produced and consumed vegetable oil in the world. It contains 50% saturated fatty acids and 50% unsaturated fatty acids. It is a major source of minor compounds such as carotenoids and vitamin E, essential for human health. Thus, a study of the bioavailability by quantitative dosage of vitamins A and E, triglycerides and cholesterol in wistar rats during 12 hours of digestion of red palm oil was carried out. The results revealed on the one hand, a variation in the bioavailability of triglycerides (0.17 – 10.41 g/L) and total cholesterol (0.12 – 1.61 g/L). And on the other hand, that of

cholesterol HDL (0.09 – 0.53 g/L), LDL (0.007 – 1.71 g/L), vitamins A (1.52 – 53.90%) and E (0.02 – 27.33%). Ultimately, these different compounds are bioavailable after consumption of red palm oil. However, the LDL cholesterol level during the 12 hours of digestion of red palm oil is below the threshold (2.5 g/L) describing a risk of hypercholesterolemia. One of the desirable axes would be to carry out a study of bioavailability using refined palm oil which is the most consumed in Côte d'Ivoire.

Keywords: bioavailability, palm oil

1. Introduction

L'huile de palme, extraite de la pulpe des fruits du palmier à huile est aujourd'hui la première source de corps gras végétal sur le marché mondial. C'est un élément majeur de la sécurité alimentaire des pays d'Asie et d'Afrique [1]. Elle suscite de nombreux intérêts au niveau de ces apports nutritionnels favorables pour la santé. En effet, elle apporte des nutriments tels les acides gras saturés et insaturés qui représentent des sources importantes d'énergie pour les consommateurs. De plus, l'huile de palme est une bonne source d'antioxydants dont de tocotriénols, tocophérols, caroténoïdes et de phytostérols ayant des effets cardioprotecteur et anticancérogène [2]; [3]. L'huile, de par sa position mondiale et ces richesses nutritionnelles présente un intérêt de plus en plus croissant.

Cependant, ces différents composés intéressants pour la santé dont l'huile de palme contient sont-ils biodisponibles après consommation de cette huile ? Ainsi donc, la nécessité d'apporter des réponses à cette inquiétude justifie la présente étude.

2. Matériel et méthodes

Le matériel utilisé est constitué de matériel végétal et de matériel animal. Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué d'huiles de palme brute (produites de façon artisanale) en Côte d'Ivoire (**Figure 1**). Puis, le matériel animal est constitué de rats de souche Wistar, de l'espèce *Rattus norvegicus* (**Figure 2**). Les concentrations des composés ont été déterminés selon différentes méthodes. Le dosage de vitamines a été réalisé selon la directive 2000 [4]. Le dosage des triglycérides a été réalisé selon la méthode de [5]. Le dosage du cholestérol total a été effectué par la méthode colorimétrique enzymatique sous l'action de la cholestérol-estérase selon la méthode décrite par [6].

La détermination du cholestérol HDL a été effectuée par le test colorimétrique enzymatique en phase homogène suivant la méthode de [7]. Le dosage du cholestérol LDL a été réalisé à partir de la méthode colorimétrique enzymatique décrite par [8]. Le dosage a été réalisé à l'aide du kit Cholestérol LDL-cobas Roche (référence : 07198917-190) (France).

La fraction de nutriment biodisponible était celle détectable dans le sang (sérum) ou dans les organes.

$$\% \text{ BIOD} = (\text{qtté nutri Tn} - \text{qtté nutri T0}) \times 100$$

(Eq 6)

Avec :

qtté nutri T_n : quantité du nutriment déterminée chez l'animal essai à un temps donné

qtté nutri T₀ : quantité du nutriment déterminée chez l'animal témoin.



Figure 1 : échantillon d'huile de palme rouge



Figure 2 : échantillon de rat

3. Résultats et discussion

Les teneurs en vitamine E des huiles de palme rouge et raffinées varient entre 0,88 et 70,71 %. Les α -tocophérol, α -tocotriénol et γ -tocotriénol sont les plus abondants dans ces huiles. L'étude de la variation des taux sériques de triglycérides ; de cholestérols et de vitamines indiquent que le taux sérique de triglycérides augmente progressivement de la première à la neuvième heure après le gavage des rats (0,17 à 10,41 g/L). A partir de la neuvième heure de digestion de l'huile, le taux sérique de triglycérides diminue de 10,41 à 9,77 g/L.

Le taux de cholestérol total augmente progressivement avec le temps de digestion de la première à la sixième heure après le gavage des rats (0,12-1,30 g/L) puis, diminue de 1,28 à 0,76 g/L entre la sixième et la huitième heure. Ensuite, cette concentration de cholestérol sérique double à la neuvième heure de digestion (1,46 g/L) et se stabilise autour de 1,5 g/L.

De la première à la huitième heure de digestion, les taux sériques des cholestérols HDL et LDL sont quasi identiques avec des concentrations comprises entre 0,007 et 0,20 g/L. Le taux de cholestérol HDL demeure constant jusqu'à la 12^{ème} heure de l'expérience. Mais celui du cholestérol LDL augmente et avoisine la teneur en cholestérol total de la neuvième à la 12^{ème} heure de digestion avec des valeurs comprises entre 1,46 et 1,71 g/L. La biodisponibilité de la vitamine E varie en fonction du temps de digestion et des organes étudiés. Celle-ci se situe entre 0 et 53,90 % de la première à la 12^{ème} heure de l'expérimentation. Une heure après le gavage, le sérum présente la plus forte concentration en vitamine E avec une quantité de 10,83 %. Mais le foie en a la plus faible concentration qui est de 0 %. La réponse postprandiale indique que le taux de vitamine E augmente relativement dans les différents organes avec la durée de digestion. Ces résultats se rapprochent de ceux de [9] qui ont réalisé une analyse sur la cinétique de l' α -tocophérol dans les chylomicrons. Ceux-ci décrivaient la réduction du risque de maladies coronariennes grâce à la biodisponibilité de l' α -tocophérol dans les chylomicrons mesurées à intervalle de temps réguliers jusqu'à huit heures de temps, après consommation d'un repas supplémenté en α -tocophérol.

Conclusion

L'étude de la biodisponibilité des composés chez les rats indique que les vitamines A et E, le cholestérol et les triglycérides sont biodisponibles après consommation de l'huile de palme rouge. Les taux sériques en triglycérides augmentent avec le temps de digestion de l'huile de palme rouge avec des taux variant de 0,17 à 10,41 g/L. Le taux de LDL cholestérol (0,01-1,71 g/L) au bout de 12 heures de digestion de l'huile de palme rouge est inférieur à la concentration décrivant un risque coronarien. La répartition de la vitamine E est plus représentative dans l'ensemble des organes étudiés, mais la vitamine A se retrouve en plus grande quantité dans le foie.

Bibliographie :

- [1]. Jacquemard J-C., 2012. Le palmier à huile, livre, p. 240.
- [2]. Sundram K., Sambanthamurthi R., Tan Y., 2003. Palm fruit chemistry and nutrition, Asia Pacific Journal Clinical Nutrition; 12 : 335-362.
- [3]. Directive 88/344/EEC of 13 June 1988. The approximation of the laws of the Member States on extraction solvents used in the production of foodstuffs and food ingredients 1p.
- [4]. Wahlefed A.W., Bergmeyer H.U., 1974. Methods of enzymatic analysis, academic press, 2nd English ed. New York, 102p.
- [5]. Birringer M., Pfluger P., Kluth D., Landes N., Brigelius-Flohe R., 2002. Identities and differences in the metabolism of tocotrienols and tocopherols in HepG2 cells. Journal Nutrition, 132, p.3113–3118.
- [6]. Allain C.C., Poon L.S., Chan C.S.G., Richmond W., Fu P.C., 1974. Enzymatic determination of total cholesterol. Clinical Chemistry, 20 : 470-475.
- [7]. Burtein M., Selvenick H.R., Morfin R., 1970. Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanion, Journal of lipid research, 11 : 583-595.
- [8]. Sugiuchi H., Irie T., Uji Y., Ueno T., Chaen T., Uekama K., Okabe H., 1998. Homogeneous assay for measuring low-density lipoprotein cholesterol in serum with triblock copolymer and $\hat{\pm}$ - cyclodextrin sulfate. Clinical Chemistry 44:522–531.
- [9]. Desmarchelier C., Tourniaire F., Nowicki M., Bott M., Borel P., 2014. La variabilité génétique qui module la biodisponibilité de la vitamine E peut-elle expliquer l'hétérogénéité des effets biologiques observés suite à la supplémentation en vitamine E? Nutrition clinique et métabolisme, 28 : pp.S29–S65.

EFFETS D'UN BIOFERTILISANT SUR LA COMPOSITION NUTRITIVE ET LA CAPACITE ANTIOXYDANTE DE L'AUBERGINE (N'DROWA)

YAO Koffi aimé,¹ AKMEL Djedjro Clément,² ASSIDJO Nogbou Emmanuel³

¹Laboratoire des Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles (LAPISEN),
INP-HB ; Côte d'Ivoire

²Laboratoire d'Analyse de Sols et Végétaux, (LAVESO), INP-HB; Côte d'Ivoire

koffiaimyao@gmail.com

[GT4 \(RECMOA\)](#)

Résumé

La pauvreté des sols en nutriments impacte considérablement la qualité des produits agricoles. Comme solution, le recours aux biofertilisants pourrait renforcer la qualité gustative et nutritive de ces produits. L'objectif de ce travail est d'apprécier l'effet des différentes formulations de biofertilisants sur la qualité nutritive d'une variété de l'aubergine (N'drowa). Le dispositif expérimental est constitué de blocs randomisés complets, comprenant cinq traitements à dose croissante (D0, D1=1kg/m², D2=2kg/m², D4=4kg/m²) de biofertilisants à base de coque de cacao et des feuilles de moringa. Après récolte, l'évaluation de la teneur en nutriments et des composés antioxydants des aubergines a été vérifiée au Laboratoire. Les résultats montrent que les valeurs significativement élevées des nutriments et des antioxydants sont observées pour les formulations T1 et T3. On note une augmentation des teneurs en magnésium (19g/100g), en potassium (49g/100g), en calcium (39g/100g), en protéine (14,33%), en fer (2,4mg/kg), en Zinc (8,01mg/kg), en polyphénols (46mg/100g EAG) par rapport au témoin. Au vu de la richesse en éléments nutritifs et en capacités antioxydantes relativement élevée, la variété N'drowa pourrait être utilisée à titre préventive dans la lutte contre l'hypertension, l'anémie ferriprive et le stress oxydatif.

Mots clés : Bio fertilisant ; Aubergine ; Minéraux ; Composés polys phénoliques

EFFECTS OF A BIOFERTILIZER ON THE NUTRITIVE COMPOSITION AND ANTIOXIDANT CAPACITY OF EGGPLANT (N'DROWA)

Abstract

Nutrient poverty in soils has a considerable impact on the quality of agricultural products. As a solution, the use of biofertilizers could enhance the taste and nutritional quality of these products. The objective of this work is to assess the effect of different formulations of biofertilizers on the nutritional quality of a variety of eggplant (N'drowa). The experimental device consists of complete randomized blocks, comprising five treatments at increasing doses (D0, D1=1kg/m², D2=2kg/m², D4=4kg/m²) of

biofertilizers based on cocoa shell and moringa leaves. After harvest, the evaluation of the nutrient content and antioxidant compounds of eggplants was verified in the Laboratory. The results show that the significantly elevated values of nutrients and antioxidants are

observed for the T1 and T3 formulations. There is an increase in the contents of magnesium (19g/100g), potassium (49g/100g), calcium (39g/100g), protein (14.33%), iron (2.4mg/kg), Zinc (8.01mg/kg), in polyphenols (46mg/100g EAG) compared to the control. In view of the richness in nutrients and relatively high antioxidant capacities, the N'drowa variety could be used as a preventive measure in the fight against hypertension, iron deficiency anemia and oxidative stress.

keywords: Bio fertilizer, eggplant, minerals, polyphenolics compound

1. INTRODUCTION

De nos jours, l'agriculture en Côte d'Ivoire s'est diversifiée avec l'intensification des cultures maraîchères dans les zones rurales et périurbaines. Au nombre de ces cultures, il y a l'aubergine qui occupe une place importante dans le secteur du vivrier. L'aubergine africaine est l'un des légumes-fruits les plus couramment cultivés et consommés en Afrique tropicale. Elle occuperait la troisième place en volume de consommation après la tomate, l'oignon et le gombo [1]. L'aubergine est riche en fer, en calcium, en phosphore, en potassium et en vitamines B. Les aubergines sont à la base de nombreux plats en Côte d'Ivoire et font partie des cultures essentielles pour la sécurité alimentaire. La production se situe généralement à 65 000 tonnes, mais a connu une forte poussée en 2001 et 2002, avec respectivement 95 637 et 97 645 tonnes. Mais, ils ne disposent pas de semences améliorées. Ils utilisent les semences qualifiées de « tout-venant » dont l'ascendance est inconnue et qui n'ont fait l'objet d'aucune amélioration génétique. Il est donc important de mettre en place un schéma de sélection et d'amélioration génétique de variétés d'aubergine en vue de booster la production de légumes en Côte d'Ivoire [2]. Les légumes jouent un rôle important dans l'organisme humain. Mais ne disposent que de petits espaces ; ce qui est un frein à l'augmentation de la production en aubergine. L'alimentation humaine en raison de leur teneur en vitamines, minéraux et autres composés nutritionnels qui contribuent à une meilleure santé [3]. L'objectif principale de cette étude est d'observer l'impact du biofertilisant formulé sur les paramètres chimiques et biochimiques de l'aubergine n'drowa (*solanum aethiopicum gilo*). Cette étude présentera d'abord le matériel et méthodes utilisés suivie des résultats et discussion et enfin la conclusion.

2. Matériel et Méthodes

2.1 Matériel végétal

Les fruits de l'aubergine récoltés ont permis de faire la caractérisation chimique et biochimique selon des méthodes d'analyses universelles au laboratoire. L'échantillonnage consiste à prélever 50 à 100 aubergines.



Photo 1

2.2. Méthode d'étude

2.2.1 - Détermination du taux d'humidité

Le taux d'humidité est la quantité d'eau perdue par une substance dans des conditions bien déterminées de température. Il s'agit de dessécher les échantillons à analyser à la température de 105°C, puis de calculer la perte de masse et de l'évaluer en pourcentage

Selon la méthode AOAC [4], les échantillons ont été pesés (P_0) à l'aide d'une balance de précision de type OHAUS. Ils ont été séchés dans une étuve de marque FROILABO, à 105 °C pendant 24 h. A la sortie de l'étuve, les échantillons ont été refroidis dans un dessiccateur et pesés(P_1); le pourcentage d'humidité a été déterminé par calcul selon la formule :

$$H (\%) = \frac{P_1 - P_0}{P_0} \times 100$$

2.2.2- Détermination des minéraux

La méthode utilisée est la spectrophotométrie d'absorption atomique, (AAS) suivant une application analytique décrite par Walsh.

La technique est basée sur le fait que les atomes, les ions absorbent spécifiquement les radiations lumineuses monochromatiques. Il s'agit de vaporiser les échantillons dans une source d'énergie (flamme) ; les atomes sont libérés des liaisons chimiques, et sont obtenus à l'état fondamental non excité. Les raies de résonance à bandes passantes très étroites peuvent alors être absorbées par les éléments à analyser d'où la spécificité. Une lampe à cathode creuse fournit le spectre de raies. C'est une méthode colorimétrique obéissant à la loi de Beer- Lambert.

$$A = K \times L \times C$$

Où A : Absorbance

L : Parcours optique dans le bruleur

K : Coefficient d'absorption pour la longueur d'onde choisie.

C : Concentration de l'élément.

2.2.3 - Analyses biochimiques

2.2.3.1 - Détermination de la teneur en protéines

Le dosage des protéines a été fait selon la méthode BIPEA [5] utilisant un distillateur Kjeldahl ; cette méthode est basée sur le dosage de l'azote total, qui est ensuite converti en taux de protéines. La minéralisation de 1g d'échantillon des produits concernés se fait en présence de catalyseur composé de sulfate de cuivre (CuSO₄), de sulfate de potassium (K₂SO₄) et de sélénium à l'aide d'un digesteur minéralisateur, pendant 2 h 30 min. Ensuite, une distillation est effectuée en utilisant un distillateur Kjeldahl, après addition de 25mL de solution de soude caustique (NaOH) à 40 % au minéralisât. Le distillat est recueilli dans une solution tampon d'acide sulfurique (H₂SO₄) à 0,1 N en présence d'indicateur coloré de vert de bromocrésol et de rouge de méthyl. Le titrage du distillat se fait avec une solution de NaOH à 0,1 N. Le taux d'azote total est déterminé par la formule suivante :

$$\text{Taux d'azote total} = \frac{V(\text{NaOH}) \times N(\text{NaOH}) \times 0,014 \times 100}{P}$$

V(NaOH) : volume de NaOH de la chute de burette ;

N (NaOH) : normalité de NaOH ;

0,014 : coefficient affecté à la concentration de la solution normale d'azote (14/1000) ;

P : prise d'essai de l'échantillon.

Le coefficient de conversion de l'azote en protéines que nous avons adopté est 6,25, coefficient utilisé par la plupart des auteurs dans l'ignorance de coefficients spécifiques pour l'aubergine.

$$\text{Taux de protéines} = \text{taux d'azote total} \times 6,25$$

2.2.3.2 -Détermination de la teneur en flavonoïdes

Les réactifs utilisés pour la détermination de ces teneurs sont :

Le malvidine-3-glucoside, la quercétine du réactif de Folin-Ciocalteu, fournis par Sigma (St Louis, Etats Unis d'Amérique). L'acide gallique, le carbonate de sodium et le sulfate de fer sont obtenus chez Merck (Damstadt, Allemagne), le méthanol, le Tris-HCL, Chlorure de fer proviennent de chez Pro labo (Briare, France)

Les préparations des extraits méthanoïques des aubergines consistent à une préparation effectuée conformément à la méthode décrite par (**Bidié *et al* ;2008**) [6]. En effet, dix grammes (10g) de broyat d'aubergine a été mélangés à 100 ml de méthanol 96%. Le mélange obtenu est agité pendant 48 heures à température ambiante à l'aide d'une plaque tournante du type Stuart Scientifique (BLANC-LABO SA). Ensuite, le mélange est filtré sur papier filtre WATTMAN 3 mm. Le filtrat est évaporé à pression réduite et à 40°C à l'aide d'un évaporateur rotatif BUCHI R-114 (Switzerland). La poudre obtenue a servi à faire les différents tests.

La mise en évidence des flavonoïdes :

La méthode de **Marinova *et al.* (2005)** [7] a été utilisée pour le dosage des flavonoïdes totaux. Dans une fiole de 25 ml, 0,75 ml de nitrite de sodium (NaNO_2) à 5% (m/v) a été ajouté à 2,5 ml d'extrait. Le mélange a été additionné de 0,75 ml de chlorure d'aluminium (AlCl_3) 10% (m/v), puis incubé pendant 6 minutes à l'obscurité. Après l'incubation, 5 ml de soude (NaOH 1N) ont été ajoutés puis le volume a été complété à 25 ml. Le mélange a été agité vigoureusement avant d'être dosé au spectrophotomètre UV-visible. La lecture a été faite à 51 nm. Les essais ont été réalisés en triple. La teneur en flavonoïdes a été exprimée en gramme par litre d'extrait équivalent quercétine.

2.2.3.3 -Détermination de la teneur en polyphénols totaux

La méthode de **Wood *et al.*, (2002)** [8] a été utilisée pour le dosage des polyphénols totaux.

Un volume de 2,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu dilué (1/10) a été ajouté à 30 μl d'extrait. Le mélange a été maintenu pendant 2 minutes dans l'obscurité à température ambiante, puis 2 ml de solution de carbonate de calcium ($75\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) ont été ajoutés. Ensuite, le mélange a été placé pendant 15 minutes au bain marie à 50°C, puis refroidi rapidement. L'absorbance a été mesurée à 760 nm, avec de l'eau distillée comme blanc. Une droite d'étalonnage a été réalisée avec l'acide gallique à différentes concentrations. Les analyses ont été réalisées en triple et la concentration en polyphénols a été exprimée en gramme par litre d'extrait équivalent acide gallique ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, Eq AG).

3. Analyses statistiques

L'analyse statistique a été réalisée en effectuant une analyse des variances unidirectionnelle (ANOVA à un facteur) pour toutes les données (moyenne de chaque paramètre mesuré). Cette analyse a été réalisée à l'aide du logiciel Statistica 7.1. Les comparaisons moyennes ont été faites par le test de Newman-Keuls à $p < 0,05$.

4 : Résultats

4.1- Paramètres biochimiques et chimiques dans l'aubergine

Tableau 1 : Minéraux, composés poly phénoliques et protéine de l'aubergine en fonction des traitements

Traitements	Protéine	K	Ca	Mg	Fe	Zn	H ₂ O	Flav	Poly
Dose									
D1(1kg)	10,70b	0,35a	0,30a	0,15a	1,2a	6,35a	89,8a	10a	39a
D2 (2kg)	10,42b	0,39a	0,35b	0,17b	1,6b	7,12b	90,4b	12b	40a
D4 (4kg)	14,33a	0,49b	0,45c	0,18c	2,8c	8,75c	91,75c	15c	42b
Traitements									
T0	5,73a	0,30a	0,26a	0,13a	0,83a	5,23a	88,46a	8a	33a
T1	14,33d	0,49d	0,39c	0,19e	2,4 d	8,01d	91 d	16d	46d
T2	10,68c	0,33a	0,28a	0,14b	1,18b	7,21b	90,68c	12b	37b
T3	14,25d	0,45c	0,35c	0,16d	1,90 c	7,85c	91,05d	14c	43c
T4	7,27b	0,35a	0,27a	0,14b	1,96 c	7,17b	90,33b	11b	36b
T5	10,88c	0,39b	0,31b	0,15c	1,31b	7,98c	90,50b	12b	44c
p-value									
Dose(D)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,09
Traitement (T)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
D*T	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,14	<0,001	<0,14

Le tableau 1 présente les minéraux, composés poly phénoliques et protéine de l'aubergine récoltés sur des parcelles expérimentales codifiées respectivement T0, T1, T2, T3, T4, T5. Les teneurs en eau de l'aubergine étudiée sont autour de 91 %. Sauf le témoin qui enregistre 88,46%. Au niveau du taux des protéines il y a une variation entre (5,73 à 14,33%) fonction des doses de biofertilisant appliquées. Les aubergines en provenance des traitements T1(14,33%) et T3 (14,25%) ont obtenus les taux les plus élevés avec la dose 4kg/m² par rapport au témoin T0(5,73%) n'ayant pas bénéficié de biofertilisant. Les différentes teneurs en minéraux (Calcium, Magnésium, Potassium, Fer et Zinc) présentent des proportions satisfaisantes à la dose D4. Les aubergines du traitement T1 à la dose D4 sont les plus riches en calcium (39 mg), magnésium (19 mg) , potassium (49 mg) le zinc (8,01 mg) et le Fe (2,42 mg), tandis que le témoin T0 à enregistré les valeurs faibles en calcium (26 mg), en magnésium (13 mg) ,en potassium (30 mg) en zinc (5,23 mg) et en Fe (0,83 mg).Les valeurs de polyphénols observées à la dose D1 et D2 n'a pas eu de variation .Cependant avec la dose D4 de biofertilisant la teneur totale en polyphénols du traitement T1 est la plus élevée (46 mg/100 g EAG) de l'aubergine.

La teneur totale en flavonoïdes varie de 8 à 16 mg/100 g d'équivalent de quercétine de l'aubergine fraîche. Le niveau de flavonoïdes le plus élevé est attribué aux aubergines du traitement T1 (16/100g) d'équivalent de quercétine tandis que le Témoin T0 (8 mg/100g) a la plus faible teneur en flavonoïdes.

5. DISCUSSION

La présence abondante d'eau dans les aliments favorise la croissance de plusieurs micro-organismes (autres bactéries, levures et moisissures) [9]. Le taux d'humidité enregistré montre de forte teneur en eau dans cette variété d'aubergine, avec 88,46% pour le témoin T0 et varie en fonction des différents traitements jusqu'à 91% pour le traitement T1. La forte teneur en eau observée dans le cadre de notre étude est similaire à celle de Chinedu [10] qui a trouvé une teneur de 89,27%. De même. Showemimo et Olarewaju [11] ont trouvé une teneur de 88,73%. La forte périssabilité des aubergines est due à cette forte teneur en eau. Cela entraîne des difficultés de conservation. Cette présence importante d'eau pourrait s'expliquer par l'utilisation du biofertilisant qui est riche en matière organique et a tendance à conserver l'eau. La composition protéique, de ces aubergines est également proche de celles obtenues par certains auteurs [12]. Cette teneur élevée est due au fait que les conditions climatiques, environnementales, de maturité et de variété de l'aubergine influencent de manière significative la teneur en nutriments.

Les micronutriments varient légèrement d'un traitement à l'autre. Ces minéraux sont très importants pour prévenir contre plusieurs pathologies. En effet, le zinc et le Fer permettent de lutter contre les maladies inflammatoires [13]. Ils favorisent également le piégeage des radicaux libres [14]. Le potassium contribue à réguler la pression artérielle [15,16]. Houston et Whelton ont montré que 4700 mg par jour de supplémentation en potassium diminuera la tension artérielle de 4,4 à 2,5 mm Hg. Cependant, le calcium a une activité anticarcinogène car il réduit le risque de cancer colorectal [17]. Le magnésium est un cofacteur enzymatique qui limite la conversion de l'acide linoléique en acide γ -linoléique. Ce dernier peut contribuer à la synthèse des prostaglandines (substances provoquant des troubles cérébraux) [18]. Si les minéraux sont biodisponibles, la consommation de cette variété d'aubergine pourrait prévenir l'hypertension, le cancer et le stress oxydatif en piégeant les radicaux libres qui ont une teneur comprise entre 33 et 46 mg pour 100 g de l'aubergine séchée.

Conclusion

Au terme de cette étude, les résultats des différentes analyses ont montré que cette variété d'aubergine est riche en eau et constitue un apport nutritif, en minéraux et en protéines pour l'organisme. Une présence importante des composés phénoliques a été trouvée dans cette variété d'aubergine montrant une activité antioxydante importante. La consommation régulière de ces fruits et légumes frais sont particulièrement indiqués pour combattre la surcharge pondérale, l'hypertension, prévenir les maladies cardiovasculaires et réduire le risque de certains cancers et lutter contre le stress oxydatif.

Pour un bon équilibre nutritionnel il serait conseillé de consommer cette espèce afin de fournir les nutriments indispensables au bon fonctionnement de l'organisme.

Références bibliographiques

- [1] **Lester R. N. and A. Seck, 2004.** *Solanum aethiopicum* L. In : Grubben G. J. H. et O.A. Denton (Eds.). Ressources végétales de l'Afrique tropicale 2. Légumes. Fondation PROTA, Backhuys Publishers, Wageningen, Pays Bas : pp 530 – 536
- [2] . Noupé **Diakaria COULIBALY ***, **Lassina FONDIO et Mako François De Paul N'GBESSO.** Évaluation des performances agro morphologiques de neuf cultivars d'aubergine en station au Centre de la Côte d'Ivoire. *Centre National de Recherche Agronomique (CNRA), Programme Cultures Maraîchères et Protéagineuses, 01 BP 633 Bouaké 01, Côte d'Ivoire, 18(1) (2021) 1 - 11*
- [3] **Fagbohoun Jean Bedel, Aké-assi Yolande, Djina Yves, N'guessan Kouakou Alban et Kouamé Lucien Patrick.** Screening of some catalytic activities of mature bays of *Solanum A ethiopicum* variety "KLONGO". *Magna Scientia Advanced Biology and Pharmacy, 2021, 01(02), 035–041*
- [4] AOAC. Analytics official Methods of Analysis of the Association chemists :1990.
- [5] **Bipea, (1976).** Méthodes d'analyses pour le contrôle qualité, 23(7), pp 70-90, 294-301
- [6] **Bidié A.P ; Koffi E, N'guessan J D, Djaman A. J ; Guédé-Guina F. (2008)** Influence Mitragynaciliata (MYTA) on the microsomal activity of Na⁺/K⁺ dependent extract on a rabbit (heart). *Afr J trad CAM.*
- [7] **Marinova et al., 2005** Méthode de détermination des flavonoïdes.
- [8] **Wood et al., 2002** Méthode de détermination des polyphénols
- [9] **Maria M. Gil Fatima A, Miller, Teresa RS, Brandao C, Silva LM.** Combined affects of temperature, pH and water activity . On predictive ability of microbial. Kinetic, inactivation model 9iem international conference on Predictive Modelling in Food Precedia Food science .2016 :7 :67-70.
- [10] **Chinedu SN, Olasumbo AC, Eboji OK, Emiloju OC, Arinola OK and Dania DI 2011.** Proximate and Phytochemical analyses of *Solanum aethiopicum* L. and *S. macrocarpon* L. fruits. *Research Journal of Chemical Sciences 1 : 63-71.*
- [11] **Showemimo FA and Olarewaju JD 2004.** Agro-nutritional determinants of some garden varieties (*Solanum gilo* L.). *J. Food Technol. 2 : 172-175*
- [12] **Rouanet J. M. (2013).** Nutrition et technologie. Antioxydants de fruits et légumes, effets santé et effets des traitements technologie. Pp 1-29.
- [13] **Prased.AS.AN** Antioxidant and anti-inflammatory agent Role of zinc in degenerative disorders of aging journal of trace elements in medicine and biology 2014
- [14] **Silvestro. RD,** Zinc in relation to diabetes and oxidative disease, *J. Nutr 2000-130 :1509S- 1511S*
- [15] Houston M. The importance of potassium in managing hypertension *curr. Hypertens Rep. 2011-13(4) :309-317.*
- [16] Whelton P HeJ. Potassium in preventing and treating high blood pressure *semin Nephrol 1999 :19 494-499.*
- [17] Flood A, Peters U, Chatterise N, Lacey SS, Schairer, Schatzkin A. Calcium from diet and supplements is associated with reduced risk of colorectal cancer in a prospective cohort of women *cancer epidemiology Biomarkers & Prevention. 2005 :14(1) :126-132.*
- [18] Laurant. P. toudy RM. Physiological and pathophysiological role of magnesium in the cardiovascular system : implication in the hypertensive. *J. hypertens 200 :18 :1177-1191.*

Effet hypoglycémiant des extraits méthanoliques et acétoniques de feuilles et d'écorces de tronc de *Sclerocarya birrea* (A.Rich.) Hochst chez les souris

[Hypoglycemic effect of acetonic and methanolic extracts from leaves and bark of *Sclerocarya birrea* (A.Rich.)Hochst in guinea pigs]

Lahat NIANG¹⁻², Fatou Kiné GUEYE³, Abdoulaye THIOYE¹, Ohouo Régina DON⁴, El hadji Cheikh DIALLO¹, Marième SOUMARE¹, Nicolas Cyrille AYEISSOU¹⁻², Mahamat SEID ALI⁵, Mady CISSE¹⁻², Codou Mar DIOP¹⁻²

¹ Laboratoire Eau, Energie, Environnement et Procédés Industriels (LE3PI),

Université Cheikh Anta Diop, Ecole Supérieure Polytechnique, BP 5080 Fann, Dakar, Senegal

² Centre d'Etudes sur la Sécurité Alimentaire et les Molécules Fonctionnelles (CESAM-RESCIF),

Université Cheikh Anta Diop, Ecole Supérieure Polytechnique, Dakar, Sénégal

³ Laboratoire de Botanique-Biodiversité, Département de Biologie Végétale, Faculté des Sciences et Techniques,

Université Cheikh Anta Diop, BP 5005 Fann, Dakar, Sénégal

⁴ University of Nangui Abrogoua, Abidjan (Côte d'Ivoire)

⁵ Faculté des Sciences et Techniques, Université Adam Barka (UNABA), Abéché, Tchad

*Email : lahatniang5@gmail.com

Remerciements : Ce travail a été réalisé dans le cadre du projet d'impulsion à la recherche de l'Ecole Supérieure Polytechnique « BiosaF », - UCAD de Dakar

RESUME

La prévalence mondiale du diabète chez les adultes est estimée 150 millions et devrait atteindre 5,4 % d'ici 2030. *Sclerocarya birrea*, connue par son activité antioxydante, est utilisées en médecine traditionnelle contre le diabète. L'objectif de cette étude est de vérifier l'effet hypoglycémiant des feuilles et d'écorces cette espèce. Ainsi, deux extraits ont été préparés : extraits hydro-méthanolique et hydro-acétonique à 70%. Les expériences ont été réalisées sur des cobayes normoglycémiques et rendus hyperglycémiques par injection d'une dose unique de glucose de 4 g/kg de poids corporel (P.C). Les résultats ont montré que l'administration orale des extraits entraîne une réduction significative de la glycémie ($p < 0,05$), de manière similaire au glibenclamide (10 mg/kg PC). Administré aux doses de 500, 700 et 1000 mg/kg P.C, les extraits ont induit une hypoglycémie dose-dépendante. Quel que soit l'organe ou le solvant d'extraction, les doses de 500 et 700 mg/kg P.C réduisent significativement, tout comme le glibenclamide la glycémie des cobayes normoglycémiques et hyperglycémiques. Ces résultats confirment le bien-fondé de l'utilisation des extraits de *S. birrea* en pharmacopée africaine. En perspectives, des études biochimiques et toxicologiques complètes permettraient d'isoler les substances actives, de formuler un phytomédicament approprié voire de faire des feuilles, un alicament.

MOTS CLES : *Sclerocarya birrea*, diabète, hypoglycémie, glibenclamid

ABSTRACT

The worldwide prevalence of diabetes in adults is estimated at 150 million and is expected to reach 5.4% by 2030. *Sclerocarya birrea*, known for its antioxidant activity, is used in traditional medicine against diabetes. The purpose of this study was to determine the hypoglycaemic effect in leaf and bark of *S. birrea*, used in diabetes. Two extracts were prepared : hydro-methanolic and hydro-acetone at 70%. The experiments were carried out on normoglycemic and diabetic guinea pigs by injection of a single dose of glucose at 4 g/kg body weight (b.w.). The results showed that oral administration of extracts leads to a significant reduction in blood sugar ($p < 0.05$), similar to glibenclamide (10 mg/kg b.w.). Administered at doses of 500, 700 and 1000 mg/kg b.w, the extracts induced dose-dependent hypoglycaemia. Regardless of organ or solvent, the doses of 500 and 700 mg/kg b.w. significantly reduce the glycaemia of normoglycemic and hyperglycemic guinea pigs, as does glibenclamide. These results confirm the validity of the use of *S. birrea* extracts in African pharmacopoeia. In perspective, complete biochemical and toxicological studies would make it possible to isolate the active substances, to formulate an appropriate phytomedicine or even to make leaves, a nutraceutical.

KEYWORDS : *Sclerocarya birrea*, diabete, hypoglycemia, glibenclamide

1. INTRODUCTION

Le diabète sucré est un syndrome clinique caractérisé par une hyperglycémie inappropriée causée par un déficit relatif ou absolu en insuline ou une résistance à l'action de l'hormone au niveau cellulaire [1]. C'est le trouble endocrinien le plus courant et le trouble métabolique qui connaît la croissance la plus rapide au monde avec une croissance annuelle moyenne de 1 à 2 % [2]. Actuellement, la prévalence mondiale du diabète chez les adultes de plus de 20 ans est de plus de 150 millions et devrait atteindre 5,4 % d'ici 2030 [3]. C'est une maladie métabolique grave menaçant, d'une manière croissante, la santé publique mondiale. Malgré l'utilisation des médicaments antidiabétiques, le diabète et ses complications constituent une grande problématique dans la prise en charge thérapeutique des diabétiques et la réussite du traitement serait d'un intérêt grandiose. Par ailleurs, l'utilisation de nouvelles molécules thérapeutiques, y compris l'insuline et les hypoglycémifiants oraux (les biguanides, les sulfonylurées), leur administration régulière engendre d'effets indésirables [4]. Cependant, les diabétologues sont arrivés à l'évidence qu'un complément thérapeutique constitué par les extraits de plantes est nécessaire pour optimiser le traitement du diabète [5], [6]. Les plantes sont reconnues comme une merveilleuse source de médicaments dont environ 1200 espèces ont été utilisées comme médicaments dans la thérapeutique traditionnelle du diabète [7], [8]. Ainsi, les remèdes à base de plantes sont sollicités pour le traitement de plusieurs pathologies, notamment le diabète sucré, plus fréquente des maladies endocriniennes, touchant environ 5 % de la population humaine mondiale avec une projection de 5,4% en 2025 [9], [10]. Les patients atteints de diabète ont le stress oxydatif élevé et une altération des systèmes de défense antioxydant, qui semblent contribuer à l'initiation et la progression des complications du diabète induit [11]. Au Sénégal, plusieurs plantes utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement du diabète ont été répertoriées dont les preuves scientifiques de la plupart d'entre elles

ne sont pas encore élucidées. C'est le cas de *Sclerocarya birrea* (A.Rich.) Hochst, plante médicinale saharienne appartenant à la famille des *Anacardiaceae*, utilisées dans le traitement du diabète dont les effets n'ayant pas encore été suffisamment rapportés [12]. Les feuilles et les écorces de tronc de cette plante sont utilisées à cet effet [13], [14]. Elles sont connu par leur forte activité antioxydante [15]. L'objectif de cette étude est d'évaluer les effets antidiabétiques des extraits méthanoliques et acétoniques de feuilles et d'écorces de tronc de *Sclerocarya birrea in vivo* sur des cobayes (souris) normoglycémiques et cobayes soumis au test de tolérance au glucose sur un modèle de laboratoire.

2. Material et Méthodes

2.1. Matériel végétal

Les feuilles et écorces de tronc, composant la matière végétale, ont été collectées au mois de Juin 2019, période de floraison, dans la région de Diourbel au centre du Sénégal. Les échantillons ont été identifiés et authentifiés au Laboratoire de Botanique-Biodiversité de la Faculté des Sciences et Techniques de l'Université Cheikh Anta Diop.

2.2. Extraction

Après lavage avec de l'eau distillée et séchage à l'étuve à 50°C au laboratoire pendant deux semaines, les feuilles et les écorces ont été pulvérisés à l'aide d'un broyeur électrique (Kenwood, France). Ainsi, les poudres tamisées avec des mailles de 1mm, font ensuite l'objet d'une extraction au Soxhlet sur un ratio de 10 g/100 mL de solvant. L'extraction est réalisée avec l'hydrométhanol 70 % (v/v), (99,98 %, Scharlau Chemie S.A, SPAIN) et l'hydro-acétone 70 % (v/v), (99,5 %, Scharlab S.L, SPAIN) pendant deux heures. Après refroidissement, le mélange est clarifié à la centrifugeuse (Hittich, Universal 16A, France) à 3000 tr/min pendant 10 minutes puis filtré sous vide sur papier Wattman No.1. Dans les extraits, les traces de solvant sont éliminées à l'aide d'un évaporateur rotatif (IKA® RV10 digital, France). Les extraits (figure 1) sont conservés dans des flacons en verre stérile hermétiquement fermé à 4°C.

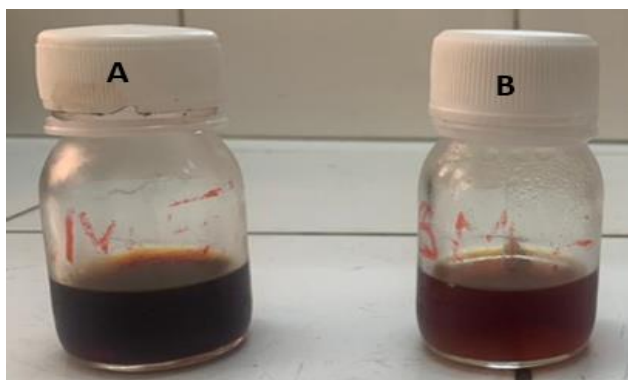


Fig. 1. Extraits en solution : feuilles (B) ; écorces (A)

2.3. Screening phytochimique

Les grandes familles des métabolites secondaires ont été recherchées dans les différents organes de la plante. L'analyse phytochimique qualitative a été réalisée selon les méthodes standards en utilisant plusieurs tests : flavonoïdes (test de Shibata), tanins (réaction de Stiasny suivie de celle du chlorure ferrique), anthracénosides (réaction de Borntraëger), alcaloïdes (réactif de Dragendorff et Mayer), stérols (réaction de Liebermann-Buchard) et saponosides (indice de mousse) [16], [17], [18].

2.4. Matériel biologique

Des souris mâles de race Wistar albinos juvéniles pesant 18-34 g ont été utilisées pour les études *in vivo* de l'activité glycémique des extraits. Ces animaux ont été fournis par l'animalerie du Laboratoire de l'Institut Pasteur de Dakar. Les animaux ont été randomisés par groupe de cinq souris par cage en bois où ils ont accès libre à l'eau et à la nourriture en quantité et en qualité suffisantes. Les animaux ont été maintenus 12 h cycle lumière/obscurité pendant une période d'acclimatation de 10 jours avant l'expérimentation.

2.5. Technique d'administration et de prélèvement

Les souris sont mises à jeun pendant 12 heures avant administration des substances en milligramme par kilogramme de poids corporel (PC) par voie orale à l'aide d'une seringue chargée. Le prélèvement s'effectue sur la veine de la queue de l'animal afin d'avoir une goutte de sang suffisante pour déterminer la glycémie. Cette dernière est mesurée à l'aide d'un glucomètre de marque Accu-Chek Active et des bandelettes réactives.

2.6. Essais sur les souris normo glycémiques

Les cobayes (souris) sont repartis en 4 lots de 6 souris et en 2 lots de 2 souris respectivement pour les extraits et les témoins. Le lot1, témoins négatifs, reçoit de l'eau distillée (ED) à la dose de 10 mg/kg PC. Le glibenclamide (GBC), constituant la substance de référence (témoin positif) a été administré à la dose de 10 mg/kg de PC [19]. Les extraits méthanoliques des feuilles ou de l'écorce (EMF, EME) ou acétoniques des feuilles ou de l'écorce (EAF, EAE) ont été administrés aux doses 500, 700 et 1000 mg/kg de PC.

2.7. Essais sur les souris hyperglycémiques

L'hyperglycémie est provoquée par administration par voie orale de glucose aux souris à la dose de 4 g/kg de poids corporel sauf le lot du control négatif [20]. Pour cette étude, les souris sont réparties en 4 lots de 6 souris et en 3 lots de 2 souris respectivement pour les extraits et les contrôles et la référence. Les différents lots contrôles de souris reçoivent de l'eau distillée, les extraits et le glibenclamide aux mêmes doses que les souris normo glycémiques. Ainsi, la glycémie des cobayes de chaque lot est mesurée avant l'administration des substances ou de l'eau distillée puis, après le traitement, à des intervalles de 30 minutes, pendant 2 heures et 30 minutes. Le pourcentage d'induction de

l'hyperglycémie et le pourcentage de réduction de l'hyperglycémie provoquée des animaux sont ensuite calculés suivante :

$$PV(\%) = 100 \left(\frac{G_i - G_t}{G_i} \right)$$

PV : pourcentage de variation de la glycémie

Gt : glycémie mesurée au temps t

Gi : glycémie initiale

2.8. Statistical Analyses

Les résultats analytiques obtenus de trois essais indépendants sont soumis à l'analyse de la variance (ANOVA) avec le logiciel STATISTICA 7.1. Les différences statistiques avec une valeur de probabilité inférieure à 0,05 sont considérées comme significatives.

3. Résultats et discussion

3.1. Screening phytochimique

Le screening phytochimique des extraits de *Sclerocarya birrea* a révélé une forte présence de polyphénols, de tanins, de flavonoïdes, d'alcaloïdes et de stéroïdes et une absence de saponosides dans les extraits d'écorces comme récapitulé dans le tableau 1 suivant. Ces composés sont fréquemment rencontrés dans les extraits végétaux comme *Sebastiania chamaelea* [21] et *Ziziphus mauritiana* Lam [22]. Ces divers métabolites contenus dans les différents extraits des organes étudiés sont connus pour leurs activités médicinales et physiologiques [20]. En effet, les substances telles que les polyphénols et les flavonoïdes sont généralement reconnues comme ayant des effets hypoglycémiant [23].

Tableau 1 : Résultats du screening phytochimique des extraits de *Sclerocarya birrea*

Espèce végétale		Alcaloïdes		Flavonoïdes	Tanins	Saponosides	Polyphénols
		RM	RD				
<i>Sclerocarya birrea</i>	Fe	++	++	++	++	+	++
	ET	-	++	++	++	-	++

RM : réactif de Mayer, RD : réactif de Dragendorff, Fe : Feuilles, E.T : écorces de tronc

++ : Forte présence, + : Présence, - : Absence

3.2 . Effets des extraits sur la glycémie des souris

L'étude de l'évolution du taux de glycémie des souris par administration orale de différentes doses d'extraits méthanoliques, acétoniques de feuilles et d'écorces de tronc, du glibenclamide (substance de référence) et d'eau distillée (témoin) est réalisée dans les mêmes conditions. L'administration par voie orale du glucose à la dose de 4 g/kg de PC a entraîné une hyperglycémie chez les souris

normoglycémiques avec un pic de 141 mg/dL. Les doses administrées (500, 700 et 5000 mg/kg de PC) n'ont entraîné aucune mortalité chez les souris traitées.

3.2.1 Effets des extraits méthanoliques sur la glycémie des souris normo glycémiques

L'évolution du taux de glycémie des souris par administration orale de différentes doses d'extraits méthanoliques, du glibenclamide (référence) et d'eau distillée (témoin) est présentée par la figure 2. Ainsi, la glycémie du lot témoin ne varie pas significativement pendant la durée d'expérimentation avec une valeur de 79 mg/dL après deux heures de suivi. Cependant, toutes les doses d'extraits testées (500, 700 et 1000 mg/kg), ont des effets significatifs sur la glycémie des animaux particulièrement la dose 700 mg/kg de PC. En effet, elle entraîne une hypoglycémie passant de 96 à 62 mg/dL pour les feuilles et de 96 à 57 mg/dL pour les écorces trente minutes après administration, soit respectivement un pourcentage de réduction de 31,25% et 40,63%. Cette réduction évolue significativement deux heures après jusqu'à des pourcentages de réduction de 80,21% (1000 mg/kg de PC), 70,83% (700 mg/kg de PC) et 57,29% (500 mg/kg de PC) pour les extraits de feuilles contre 54,17% (1000 mg/kg de PC), 64,58% (700 mg/kg de PC) et 40,63% (500 mg/kg de PC) pour les extraits d'écorces.

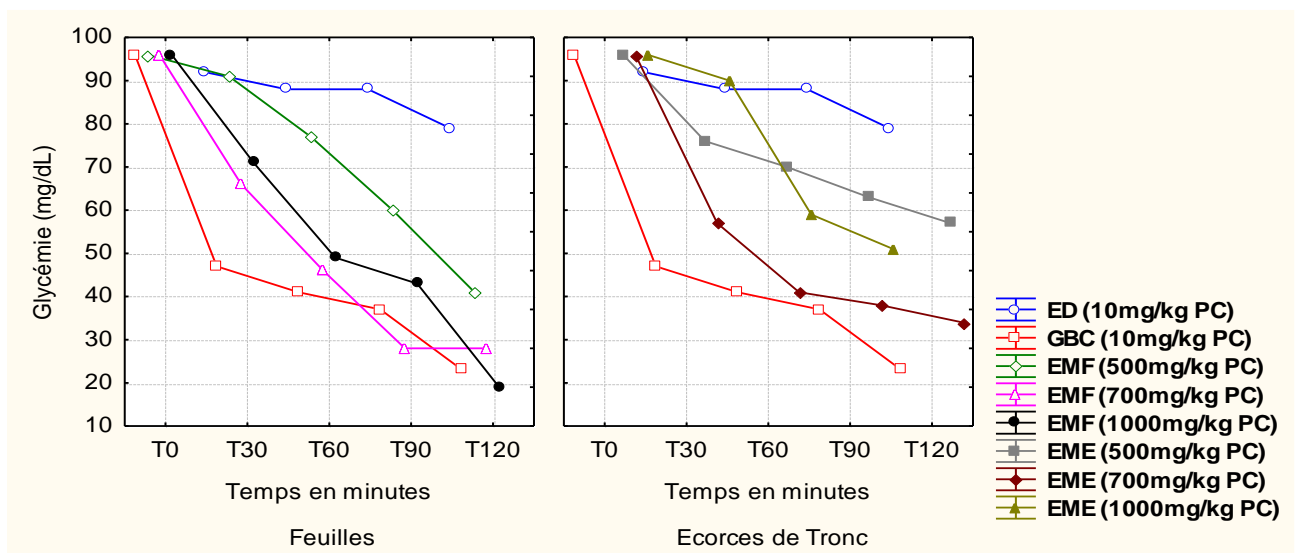


Figure 2 : Evolution de la glycémie en fonction du temps chez des souris normoglycémiques traitées avec les extraits méthanoliques de feuilles et d'écorces de tronc et du glibenclamide

3.2.2 Essais des acétoniques extraits sur la glycémie des souris normoglycémiques

Parallèlement aux extraits méthanoliques, l'administration par voie orale des extraits acétoniques de feuilles et d'écorces de tronc entraîne une réduction dose-dépendante du taux de glycémie des souris normoglycémiques (Figure 3). A toutes les doses testées (500, 700 et 1000 mg/kg), les extraits de feuilles ont induit le meilleur pourcentage de réduction avec la dose 500 mg/kg soit 33,33% au bout de 30 minutes après administration. Par ailleurs, le meilleur pourcentage de réduction chez les extraits d'écorces est obtenu avec la dose 500 mg/kg de PC soit 27,08% au bout de 30 minutes. Cette hypoglycémie suit son évolution jusqu'à des pourcentages de réduction de 44,79% (1000 mg/kg de

PC), 43,75% (700 mg/kg de PC) et 51,04% (500 mg/kg de PC) pour les extraits de feuilles après deux heures d'administration. Parallèlement aux extraits de feuilles, ils sont réduits progressivement avec les extraits d'écorces tout le temps de l'expérience avec un meilleur pourcentage de 43,75% avec la dose 700 mg/kg de PC.

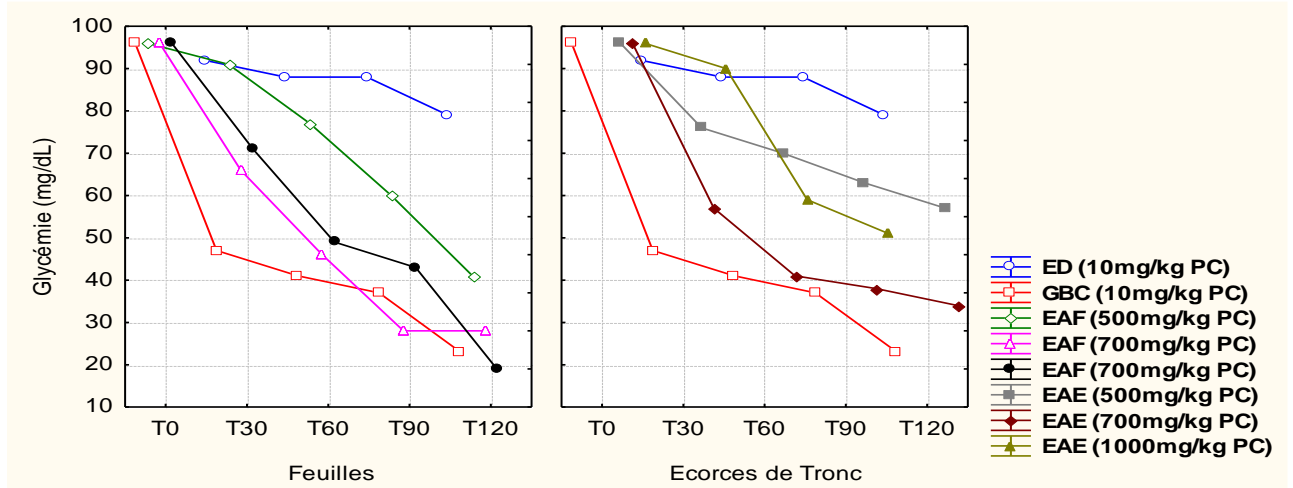


Figure 3 : Evolution de la glycémie en fonction du temps chez des souris normoglycémiques traitées avec les extraits acétoniques de feuilles et d'écorces de tronc et du glibenclamide

3.3.3 Effets des extraits méthanoliques sur l'hyperglycémie induite chez les souris

Les extraits méthanoliques de feuilles et d'écorces administrés par voie orale 30 minutes après induction de l'hyperglycémie par le glucose réduite de façon dose-dépendante la glycémie des souris au cours de l'expérimentation (Figure 4). Les meilleurs pourcentages de réduction sont obtenus avec la dose 700 mg/kg de PC (58,16%) pour les extraits de feuilles et la dose 500 mg/kg de PC (75,89 %) pour les extraits d'écorces. Par ailleurs, les extraits d'écorces présentent les meilleurs pourcentages de réduction de l'hyperglycémie des souris. Chez les souris témoin négatif, l'hyperglycémie est réduite progressivement sans différence significative. Cependant, le glibenclamide (témoin positif) réduit de façon significative l'hyperglycémie induite par le glucose 30 minutes après son administration (15,60%). Cette réduction se poursuit jusqu'à 76,60 % après 2 heures. Par ailleurs la glycémie de souris administrées avec les extraits revient à la normale au bout de 110 minutes contre 30 minutes pour le témoin positif.

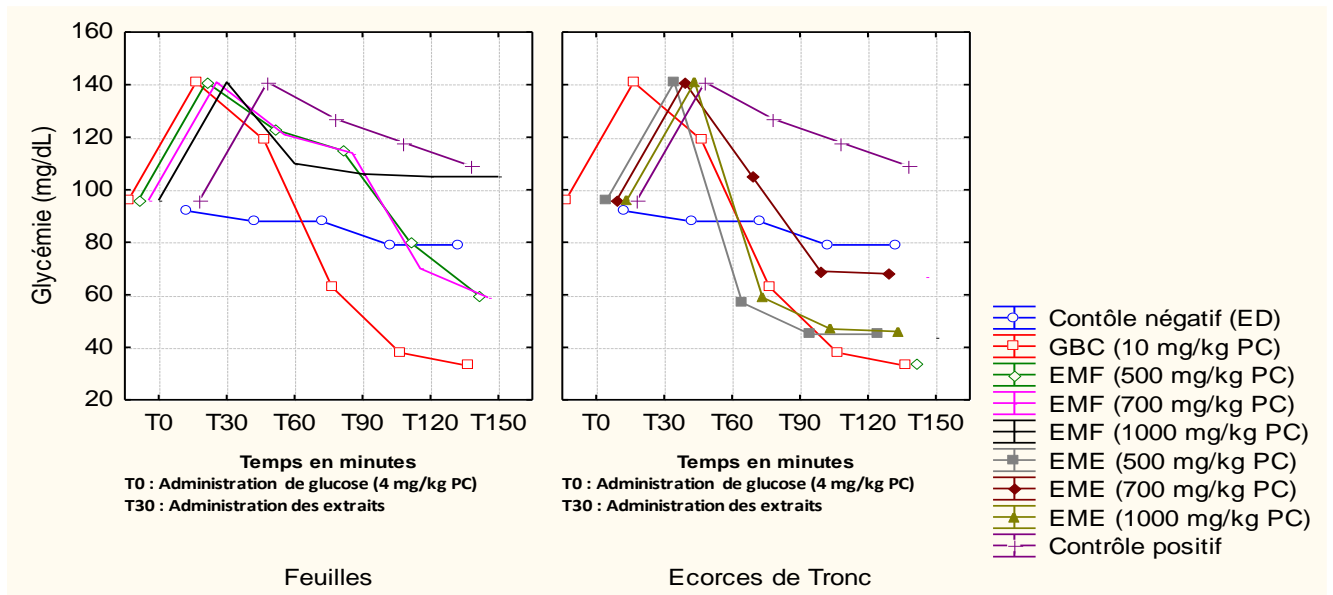


Figure 4 : Evolution de la glycémie en fonction du temps chez des souris hyperglycémiques traités avec les extraits méthanoliques de feuilles et d'écorces de tronc et du glibenclamide

3.3.4 Effets des extraits acétoniques sur l'hyperglycémie induite chez les souris

A partir de la figure 6, il apparaît que, quels que soient la dose et l'organe étudié, les extraits acétoniques réduisent significativement l'hyperglycémie des souris induit par le glucose. En effet, l'administration des extraits de feuilles a entraîné une baisse significative de l'hyperglycémie de 141 mg/dL, 30 minutes après jusqu'à des valeurs de 123 mg/dL (500 mg/Kg de PC), 121 mg/dL (700 mg/Kg de PC) et 110 mg/dL (700 mg/Kg de PC) soient 40,14%, 42,25% et 54,93% respectivement. Chez les souris ayant reçu les extraits d'écorces, l'hyperglycémie (141 mg/dL) des animaux est réduite significativement, au cours d'expérimentation donnant des pourcentages de réduction de 44,37%, 90,14% et 54,23% respectivement pour les doses 500, 700 et 1000 mg/Kg de PC, 2 heures après administration. Cependant, le lot témoin négatif, subit une réduction progressive du taux glycémique au cours de l'étude. En outre, le glibenclamide (10 mg/Kg de PC) réduit à dose-dépendante l'hyperglycémie provoquée par le glucose jusqu'à une hypoglycémie de 33 mg/dL soit 84,51% de réduction au bout de 2 heures avant de revenir à la normale 35 minutes après. Cependant la glycémie des souris recevant les extraits revient à la normale au bout de 50 minutes (feuilles) et de 60 minutes (écorces de tronc).

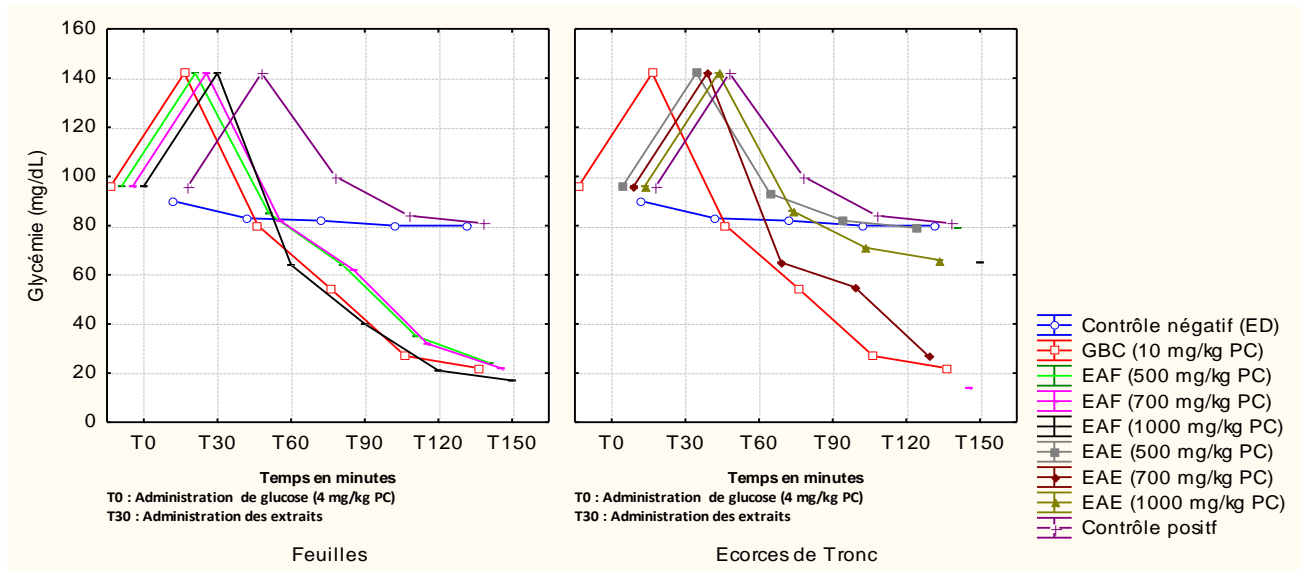


Figure 5 : Evolution de la glycémie en fonction du temps chez des souris hyperglycémiques traitées avec les extraits acétoniques de feuilles et d'écorces de tronc et du glibenclamide

Dans cette étude, il a été observé dans les extraits méthanoliques que les feuilles ont une activité hypoglycémiant significative que les écorces chez les souris normoglycémiques. Cependant, pour les extraits acétoniques, les écorces ont plus d'effet réducteur que les feuilles sur la glycémie des animaux. Ces résultats montrent que l'espèce *Sclerocarya birrea* possède une activité antidiabétique. Ainsi, l'effet hypoglycémiant et la réduction de l'hyperglycémie observées chez les souris administrés par les extraits méthanoliques et acétonique de *Sclerocarya birrea* pourraient s'expliquer par une stimulation de la sécrétion de l'insuline par le pancréas [24], et/ou, probablement, par une augmentation de l'utilisation périphérique du glucose en présence de l'extrait [25]. Il a été démontré que les composés polyphénoliques notamment les flavonoïdes sont capables d'activer la voie de signalisation phosphoinositidique 3-kinase (PI3K). Cette activation entraînerait une action insulinomimétique qui stimulerait l'absorption du glucose, la synthèse de glycogène et inhiberait la gluconéogenèse au niveau des tissus cibles. Toutes ces réactions synergiques auraient pour effet de réduire l'hyperglycémie installée, conférant aux extraits en étude, une propriété antidiabétique [26]. L'action thérapeutique de ces extraits pourrait être également être due à leur activité antioxydante [27]. L'amélioration du statut oxydant normaliserait la fonction endothéliale endommagée, induirait une amélioration de la sécrétion d'insuline par réduction des dégâts causés par les radicaux libres sur la cellule bêta pancréatique [28]. Ainsi, la plante utilisée en médecine traditionnelle trouve en partie leur explication. Elles pourraient participer à l'activité antidiabétique et antioxydante du médicament traditionnellement. L'action thérapeutique de la plante pourrait être également être due à leur activité antioxydante. En effet, l'amélioration du statut oxydant normaliserait la fonction endothéliale endommagée, induirait une amélioration de la sécrétion d'insuline par réduction des dégâts causés par les radicaux libres sur la cellule bêta pancréatique.

4. CONCLUSION

L'exploitation du potentiel biologique des espèces végétales revêt un intérêt majeur. Les nouvelles démarches consistent à s'intéresser à la recherche des principes actifs dans les produits naturels d'origine végétale. Ce présent travail de recherche avait pour objectif l'évaluation de l'activité glycémique *Sclerocarya birrea*. En effet, elle est utilisée dans le traitement du diabète en médecine traditionnelle par les populations locales de manière empirique. Nos résultats permettent d'affirmer que les deux organes de *Sclerocarya birrea* possèdent des molécules bioactives douées de propriétés thérapeutiques telles qu'antioxydante et antidiabétique. Ainsi, *Sclerocarya birrea* pourrait donc contribuer à la prise en charge du diabète. Nos résultats appuient, en effet, la motivation du recours à la médecine traditionnelle par les utilisateurs de la plante. A cet effet et dans les perspectives de ces travaux, nous envisageons de faire une étude chimique complète en vue d'isoler les substances actives et d'élucider leurs structures chimiques responsables de l'effet antidiabétique afin d'apporter une preuve supplémentaire de l'activité de cette plante.

5. Bibliographie

- [1] K. A. Wadkar, C. S. Magdun, S. S. Patil and N. S. Naikwade, "Anti-diabetic potential and Indian medicinal plants," *J. Herbal Med. & Toxicol*, vol. 2, no. 1, pp. 45-50, 2008.
- [2] Ebenezer O. Olapade, "Food and herbs for diabetes mellitus and hypertension," *National Cures Series*, vol. 1, pp. 3-6, 1995.
- [3] S. G. Wild, A. Roglic, R. Green and H. King, "Global prevalence of diabetes estimated for the year 2000 and projection for 2030," *Diabetes Care* 27, pp.1047-1054., 2004.
- [4] S. E. Nissen, & K. Wolski, "Effect of rosiglitazone on the risk of myocardial infarction and death from cardiovascular causes," *New England Journal of Medicine*, vol. 356, no. 24, pp. 2457-2471, 2007.
- [5] Y. Y. Kim, H. J. Kang, S. K. Ko, & S. H. Chung, "Sopungsungi-won (SP) prevents the onset of hyperglycemia and hyperlipidemia in Zucker diabetic fatty rats," *Archives of pharmacal research*, vol. 25, no. 6, pp. 923-931, 2002.
- [6] L. Jin, H. Y. Xue, L. J. Jin, S. Y. Li, & Y. P. Xu, "Antioxidant and pancreas-protective effect of aucubin on rats with streptozotocin-induced diabetes," *European journal of pharmacology*, vol. 582, no. 3, pp. 162-167, 2008.
- [7] R. J. Marles, & N. R. Farnsworth, "Antidiabetic plants and their active constituents," *Phytomedicine*, vol. 2, no. 2, pp. 137-189, 1995.
- [8] A. Kamalrudin, M. Jasamai, M.M Noor, "Ameliorative Effect of *Moringa oleifera* Fruit Extract on Reproductive Parameters in Diabetic-induced Male Rats," *Pharmacognosy Journal*, vol. 10, no. 6, pp. 54-58, 2018.
- [9] Al-Achi A., Herbs that affect blood glucose levels. *Women's Health in Primary Care*, vol. 8, pp. 325-330, 2005.
- [10] Danaei G., Finucane M. M., Lu Y., Sing G. M., Cowan M. J., Paciorek C. J., National regional and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2.7 million participants. *Lancet*, vol. 378, pp. 31-40, 2011.
- [11] S. H. Kim, S. H. Hyun, & S. Y. Choung, "Anti-diabetic effect of cinnamon extract on blood glucose in db/db mice," *Journal of ethnopharmacology*, vol. 104, no. 2, pp. 119-123, 2005.
- [12] C. Ngarnougber, F. T. Ngaryo, I. Adamou, "Caractérisation des ligneux de la savane sahélienne à *Acacia Sénégal* (L) Willd dans la région du Guéra, Tchad.," *International Journal of Applied Research*, vol. 3, no. 4, pp. 600-606, 2017.
- [13] A.L. Sene, K. Niang, G. Faye, N. Ayessou, M.B. Sagna, M. Cisse, A. Diallo, O.K. Cisse, M. Gueye et A. Guisse, "Identification des usages de *Sclerocarya birrea* (A. rich) Hoscht dans la Zone Du Ferlo (Senegal)

- et evaluation du potentiel biochimique et nutritionnel de son fruit,” *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, vol. 18, pp. 13470-13489, 2018.
- [14] G. E. Essien, T. P. Sunday and I. M. Udoette, “In Vitro Antioxidant Analysis and Quantitative Determination of Phenolic and Flavonoid Contents of *Emilia sonchifolia* (L) D.C (Asteraceae) Leaf Extract and Fractions,” *GSC Biological And Pharmaceutical Sciences*, vol. 11, no. 2, pp. 044-052, 2020.
- [15] L. Niang, S.A. Mahamat, N.C. Ayessou, M. Cisse and C.M. Diop, “Antioxidant Activity of Hydro-Acetic, Hydro-Methanolic and Aqueous Leaf and Bark Extracts of *Sclerocaria birrea* L. (A. Rich.) Hochst,” *Food and Nutrition Sciences*, vol. 12, pp. 429-438, 2021.
- [16] S. Georgé, P. Brat, P. Alter, and M. J. Amiot, “Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 53, no. 5, pp. 1370–1373, 2005,
- [17] D. Ki., O. Chun., Y. Kim., H. Moon., C. Lee, “Quantification of phenolics and their antioxidant capacity in fresh plums,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 5. no. 1, pp. 6-9, 2003.
- [18] Maynard Joslyn : *Methods in Food Analysis*. 2ème éd. Academic Press, New York, USA., 110p, 1970.
- [19] V.K. Sharma, S. Kumar, H.J. Patel, S. Hugar, “Hypoglycaemic Activity of *Ficus glomerata* in alloxan induced diabetic rats,” *International Journal of Pharmaceutical Sciences, Review and Research*, vol. 1, no. 2, pp.18-21, 2001.
- [20] L.A.R. N’doua, K. J. C Abo, S. Aousi, M. Gbogbo, A.P. Yapo, E.E. Ehile, “Effets hypoglycémique et antihyperglycémique de l’extrait éthanolique 70 % de racines de *Rauvolfia vomitoria afzel* (apocynaceae),” *European Scientific Journal*, vol. 151, no. 2, pp. 10-17, 2015.
- [21] R.S. Mamadou, I. Moussa, P. Sessou, B. Yehouenou, P.D.C. Agbangnan, A.T. Illagouma, A. Abdoulaye, D.C.K. Sohounhloué et K. Ikhiri, “Etude phytochimique, activités antiradicalaire, antibactérienne et antifongique d’extraits de *Sebastiania chamaelea* (L.) Müll. Arg,” *J. Société Ouest-Africaine Chim.*, vol. 37, pp. 10–17, 2014.
- [22] N.B.Y. Folié, L.P.M.S. Kouakou, K. Coulibaly, R. Sanogo et D. Koné-Bamba, “Composition en sels minéraux et en métabolites secondaires de *Ziziphus mauritiana* Lam, une plante antihyperglycémiant,” *J. Société Ouest-Africaine Chim.*, vol. 44, pp. 30-35, 2017.
- [23] M.J.D. Mangambu, K.F. Mushagalusa, N.J. Kadima, “Contribution à l’étude phytochimique de quelques plantes médicinales antidiabétiques de la ville de Bukavu et ses environs (Sud-Kivu, R.D. Congo),” *Journal of Applied Biosciences*, vol. 75, 6211-6220, 2014.
- [24] J.E. Jackson, R. Bressler, “Clinical pharmacology of sulphonylurea hypoglycemic agents,” Part I. DRUG, 212, pp. 211-245, 1981.
- [25] K. J. Yasodha, K. N. Jayaveera, R. K. Ravindra, K. Rupesh, D. Raghavendra, “Anti- diabetic activity of aqueous extract of *Tali-num cuncifolium* in rats,” *Pharmacologyline*, vol. 2, pp. 198- 206, 2008.
- [26] R. Muniyappa, M. Montagnani, K.K. Koh And M.J. Quon, “Cardiovascular actions of insulin,” *Endocrine reviews*, vol. 28, no. 5, pp. 463-491, 2007.
- [27] L. Niang, S.A. Mahamat, N.C. Ayessou, M. Cisse and C.M. Diop, “Antioxidant Activity of Hydro-Acetic, Hydro-Methanolic and Aqueous Leaf and Bark Extracts of *Sclerocaria birrea* (A. Rich.) Hochst,” *Food and Nutrition Sciences*, vol. 12, pp. 429-438, 2021.
- [28] P. Victor, O. Embeya, G. N. Mavungu, P. Celestin, and P. Shongo, “Effet Antihyperglycémiant des Extraits Aqueux et Méthanoliques des Feuilles de *Vinca rosea* Chez les Cobayes,” *East African Journal of Forestry & Agroforestry*, vol. 2, no. 2, pp. 40-44, 2020.

ETUDE SUR LA CINÉTIQUE DE DÉGRADATION DE LA VITAMINE C DANS LE JUS DE POMME DE CAJOU CLARIFIÉ À LA GÉLATINE ET PASTEURISÉ AU COURS DE SA CONSERVATION

**KOUASSI Kan Kouassi Parfait^{1*}, SORO Doudjo¹, KONE Youssouf Kisselmina Youssouf¹, ASSIDJO
Nogbou Emmanuel¹, YAO Kouassi Benjamin¹**

*1 : Laboratoire des Procédés Industriels de Synthèses de l'Environnement et des Energies Nouvelles
(LAPISEN)/Institut National Polytechnique Félix HOUPHOUËT-BOIGNY de Yamoussoukro, BP 1313
Yamoussoukro-Côte d'Ivoire*

*Auteur correspondant : * kouassikanparfait@gmail.com*

RESUME

Cette étude s'intéresse à la valorisation de la pomme de cajou en jus. Cependant, la vitamine C dans le jus est affectée durant la conservation. Cette étude a pour objectif d'étudier la cinétique de dégradation de la vitamine C dans le jus de pomme de cajou clarifié et pasteurisé au cours du stockage à 4 ; 20°C et à température ambiante. La méthodologie a consisté à préparer un jus de pomme de cajou clarifié à la gélatine et pasteurisé et à doser la vitamine C au 2,6 dichlorophénol indophénol du jus à t_0 . Ensuite le jus est conservé à 4°C, 20°C et à température ambiante (température du laboratoire) dans plusieurs bocaux où chaque semaine la teneur en vitamine C est déterminée. A t_0 la teneur en vitamine C est 289,4 mg/100mL. A la fin de l'étude, nous obtenons respectivement 133,84 mg/100mL, 131,3 mg/100mL et 3,62 mg/100mL à 4°C, 20°C et à température ambiante. Les constantes de vitesse de réaction (0,059 à 4°C, 0,06 à 20°C, 0,312 à TA) ont montré que la dégradation était plus importante à la température ambiante. Le stockage à une température basse aurait pour intérêt de ralentir la vitesse de dégradation de la vitamine C.

Mots clés : Pomme de cajou, jus, vitamine C, cinétique de dégradation

STUDY ON THE KINETICS OF VITAMIN C DEGRADATION IN CASHEW JUICE CLARIFIED WITH GELATINE AND PASTEURISED DURING STORAGE

Abstract

This study focuses on the processing of cashew apples into juice. However, the vitamin C in the juice is affected during storage. The objective of this study was to investigate the degradation kinetics of vitamin C in clarified and pasteurised cashew apple juice during storage at 4°C, 20°C and at room temperature. The methodology consisted of preparing a gelatin-clarified and pasteurised cashew apple juice and determining the vitamin C content of 2,6-dichlorophenol indophenol in the juice at t_0 . The juice was then stored at 4°C, 20°C and at room temperature (laboratory temperature) in several jars where the vitamin C content was determined weekly. At t_0 the vitamin C content was 289.4 mg/100mL. At the end of the study we obtain 133.84 mg/100mL, 131.3 mg/100mL and 3.62 mg/100mL at 4°C, 20°C and

room temperature respectively. The reaction rate constants (0.059 at 4°C, 0.06 at 20°C, 0.312 at RT) showed that the degradation was higher at room temperature. Storage at a low temperature would have the advantage of slowing down the rate of vitamin C degradation.

Keywords : cashew apple, juice, storage, vitamin C, degradation kinetics

INTRODUCTION

L'anacardier (*Anacardium occidentale L.*) est un arbre fruitier qui a une influence économique non négligeable pour les populations des savanes de la Côte d'Ivoire avec la vente de la noix de cajou. Cependant, une valorisation de la pomme de cajou pourrait accroître cette importance économique car la pomme de cajou qui représente 9 à 10 fois le poids de la noix. En effet la pomme de cajou est généralement délaissée sur les lieux de récolte car non valorisée industriellement.

La pomme de cajou est un fruit très juteux (85 à 90% d'eau) et sucrée (7 à 13% de glucides) [1]. Elle est aussi riche en vitamine C et en polyphénols [2]. Elle contient également des quantités significatives de caroténoïdes [3 ; 4]. La pomme de cajou est le second fruit de l'anacardier, qui avec la noix de cajou forment l'anacarde. Sa couleur jaune, rouge ou orangé lorsqu'elle est à maturité est due à la fine à la fine couche cireuse qui constitue sa peau. Afin de valoriser la pomme de cajou, il a été entrepris de produire du jus de fruit. Comme le décrit le Codex Alimentarius, le jus de fruits est le liquide non fermenté, mais fermentescible, tiré de la partie comestible de fruits sains, parvenus au degré de maturation approprié et frais [5]. Le jus de pomme de cajou clarifié et pasteurisé obtenu renferme une forte teneur en vitamine C qui se trouve être un élément nutritionnel très important).

La vitamine C, vitamine soluble dans l'eau et indispensable pour l'homme est considérée comme un marqueur de la qualité en nutriments des aliments lors de la transformation et du stockage. En effet il a été démontré que la stabilisation de la vitamine C entraîne la stabilité des autres nutriments de l'aliment [6]. Bien qu'il s'agisse principalement d'un antioxydant hydrosoluble, la vitamine C a de multiples rôles biochimiques [7] nécessaire à la santé de la peau et des globules rouges, à la cicatrisation des plaies et des os, et la prévention des infections dans le corps humain [8].

La vitamine C est dégradée de manière non enzymatique pendant la manipulation, le traitement et le stockage des aliments [9 ; 10]. Plusieurs facteurs tels que l'exposition à la lumière, le pH influencent cette oxydation, [11]. Cette oxydation peut également être influencée par la présence d'ions métalliques [12], la présence de sucre [13] et la température de stockage [6 ; 11 ; 14 ; 15].

L'objectif de ce travail à travers les calculs est de prédire l'évolution de la teneur en vitamine C du jus de pomme de cajou clarifié à la gélatine et pasteurisé dans le temps et la cinétique de la dégradation de cette vitamine en fonction de la température de stockage. Selon la bibliographie, pour sa réalisation il faut utiliser deux (2) modèles que sont celui d'Arrhenius et celui de Bigelow. Arrhenius pour déterminer l'énergie d'activation (E_a), le coefficient de vitesse (k) et Bigelow pour le temps de réduction décimal (D), et le facteur de réduction décimal (z) entre 4 et 20 °C et la température ambiante [16].

MATERIEL ET METHODES

Matériel biologique

Le jus de pomme de cajou a été produit à partir des pommes de cajou arrivées à maturité. Ces pommes étaient soit jaunes ou rouges orangées, en fonction de la couleur de la couche cireuse. Après pressage, le jus brut a été clarifié avec une solution de gélatine à 10% puis pasteurisé à 85°C/10min.

1- Détermination de la vitamine C

La teneur en vitamine C du jus de pomme de cajou clarifié et pasteurisé a été déterminée par titrage avec le 2,6 dichlorophénol indophénol jusqu'à l'apparition d'une coloration rose champagne persistante [17]. Chaque échantillon a été analysé en triple.

La vitamine C dans le jus de pomme de cajou clarifié et pasteurisé a été déterminée hebdomadairement durant quatre (04) mois de stockage juste après la production, en tenant compte les différentes températures de stockage.

La concentration en vitamine C (Vit C) est évaluée par l'expression de l'équation (1) :

$$CE = \frac{1 \text{ mg} \times (Ve - Vo) \times 20}{1 \text{ mL} \times (Vs - Vo) \times 10} \times 100 \quad (1)$$

CE : Concentration en vitamine C de l'échantillon (mg /100mL)

Ve : Volume de 2,6-dichlorophénol indophénol versé pour neutraliser la solution d'acide métaphosphorique/acide acétique (ml) « échantillon »

Vs : Volume de 2,6-dichlorophénol indophénol versé pour neutraliser la solution standard de vitamine C (ml).

Vo : Volume de 2,6 dichlorophénol indophénol versé pour neutraliser la solution d'acide métaphosphorique/acide acétique (ml).

2- Cinétique de dégradation de la vitamine C des boissons fruitières

La cinétique de dégradation de la vitamine C a été déterminée selon deux (02) équations.

Une équation dite « primaire » qui est basée sur la loi d'Arrhenius (2) et qui définit un coefficient de vitesse de réaction dépendant de la température. Elle est utilisée pour les réactions chimiques et permet de déterminer leur énergie d'activation.

$$k = A \cdot e^{-\frac{Ea}{RT}} \quad (2)$$

Où :

k : le coefficient de vitesse (s⁻¹),

A : le facteur préexponentiel,

E_a : l'énergie d'activation (joules/mol),

R : la constante des gaz parfaits (8.32 J mol⁻¹ K⁻¹) et

T : la température en degré Kelvin.

L'autre équation dite « secondaire », met en œuvre un modèle (3) communément utilisé dans le domaine de la transformation des aliments où l'on préfère relier la durée de réduction décimale D à la température par le paramètre z (relation de Bigelow).

$$C = C_0 \cdot 10^{-\left(\frac{t}{D}\right)} \quad (3)$$

Les paramètres D et k sont liés par la relation (4). Ce modèle définit un temps de réduction décimal D qui est également lié à la température par un facteur z selon la formule (5).

$$D = \ln\left(\frac{10}{k}\right) \quad (4)$$

$$D = D_0 \cdot 10^{-\left(\frac{T}{z}\right)} \quad (5)$$

Avec D le temps de réduction décimal à la température de référence T

Les paramètres du modèle ont été déterminés grâce à des régressions linéaires sur les courbes logarithmiques des données obtenues à l'issue des analyses. La valeur du facteur de réduction décimal z a été déterminée graphiquement bien qu'elle aurait pu être estimée à partir de l'énergie d'activation en utilisant la relation (6) (Cissé, 2012).

$$z = \ln(10) \frac{RT^2}{E_a} \quad (6)$$

3- Analyses statistiques

Toutes les déterminations ont été réalisées en triple exemplaire et les données ont été traitées à l'aide des logiciels Microsoft Excel 2016 et Statistica version 7.1 avec lequel nous avons fait des tests ANOVA factorielle avec un seuil de 5%.

RESULTATS ET DISCUSSION

1- Evolution de la teneur de la vitamine C au cours du stockage

Les résultats des expériences cinétiques ont montré une réduction de la concentration en vitamine C dans les trois (03) échantillons, bien que la réduction ait été plus lente à 4°C et 20°C par rapport à la température ambiante.

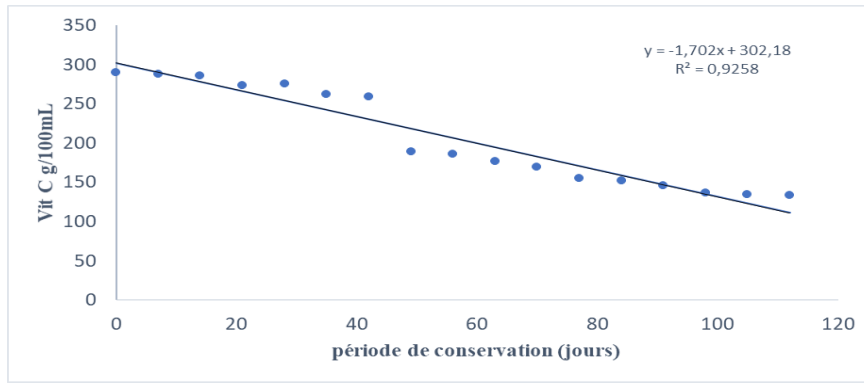


Figure 1 : courbe d'évolution de la vitamine C à 4°C

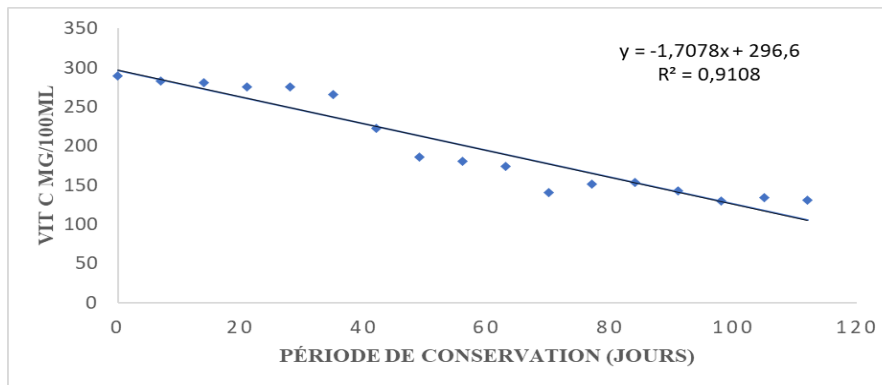


Figure 2 : courbe d'évolution de la vitamine C à 20°C

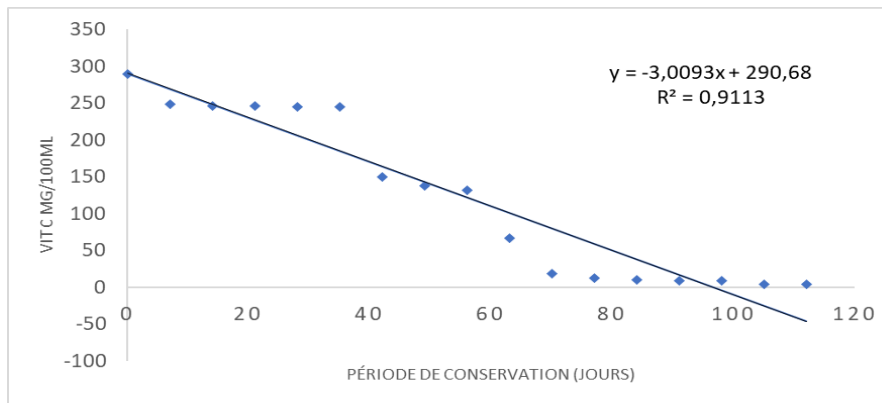


Figure 3 : courbe d'évolution de la vitamine C à TA

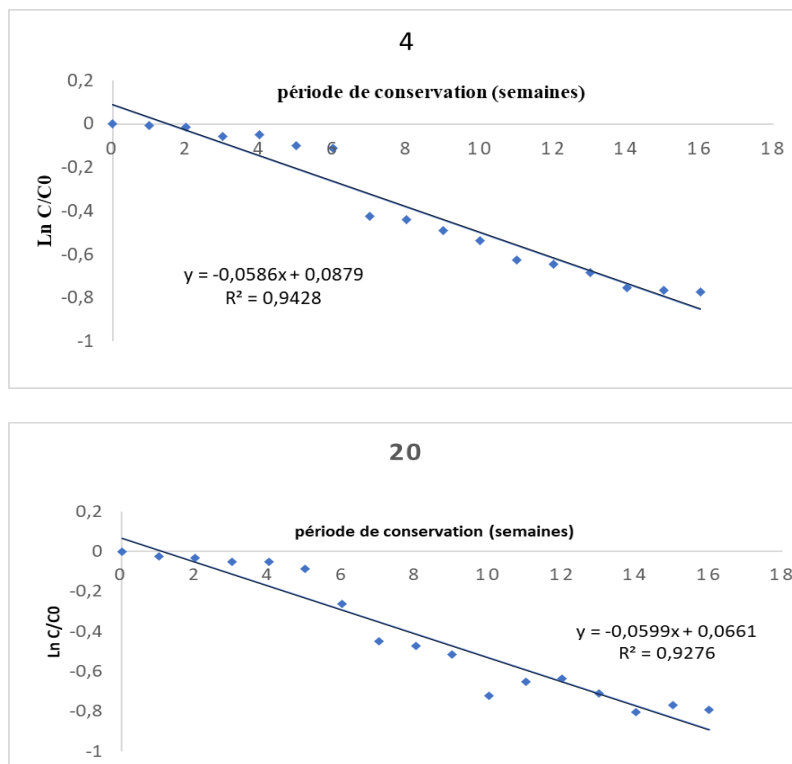
Les figures 1, 2 et 3 montrent les graphiques de dégradation du jus de pomme de cajou aux températures respectives de 4°C, 20°C et température ambiante. La figure 3 montre que la teneur en vitamine C du jus de pomme de cajou clarifié et pasteurisé diminue dès la première semaine de stockage à température ambiante. Cette diminution est fonction de la température de conservation assez élevée (28°C en moyenne). Après quatre mois de stockage, les quantités de la vitamine sont respectivement de 133,84 mg/100mLes, 131,3 mg/100mLes et 3,62 mg/100mLes pour les températures de 4°C, 20°C et température ambiante. Soit une perte en vitamine C de 54% à 4°C, de 54,57% à 20°C et 98,74% à la température ambiante.

La vitamine C contenu dans le jus de pomme de cajou clarifié et pasteurisé diminue de façon progressive durant les quatre mois de stockage selon la température de conservation. [18] ont fait cette même observation pour le jus du fruit de la passion (variété pourpre) conservé à différentes températures dans des emballages en verre transparentes, ainsi que [19] qui, eux, ont travaillé sur le concentré de jus d'orange. Dans leurs travaux, [11] ont indiqué qu'un stockage à basse température est recommandée pour assurer la rétention de l'acide L-ascorbique.

La dégradation de la vitamine C du jus de pomme de cajou serait due à l'oxygène présent dans les emballages, à la chaleur ou à la lumière [20 ; 21]. Au cours du stockage du jus, cette dégradation est spécialement due à la température et à la durée de stockage [14]. En effet, pendant le stockage, la vitamine C subit une dégradation anaérobie favorisée par l'acidité et la température [21]. Lorsque le milieu est acide et chaud, l'acide ascorbique subit une déshydratation et une décarboxylation qui mènent à la formation de gaz carbonique et le furfural [22]. Le furfural formé peut se lier aux acides aminés et conduire à la formation de l'hydroxyméthylfurfural qui est un précurseur de pigments bruns [23].

2- Cinétique de dégradation de la vitamine C dans le jus de pomme de cajou clarifié et pasteurisé

La figure 4 présente les courbes obtenues à partir des modèles pour les différentes températures de conservation du jus de pomme de cajou.



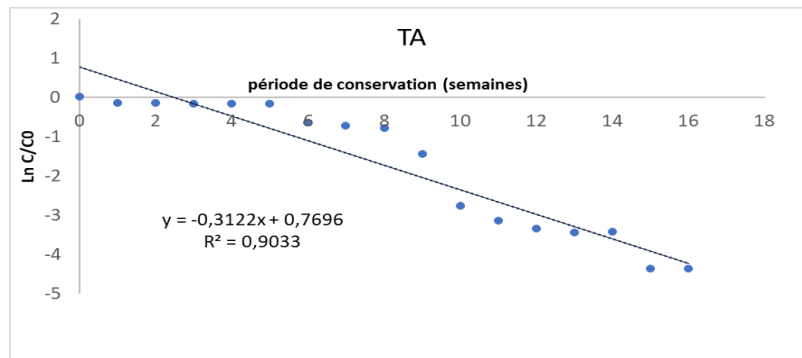
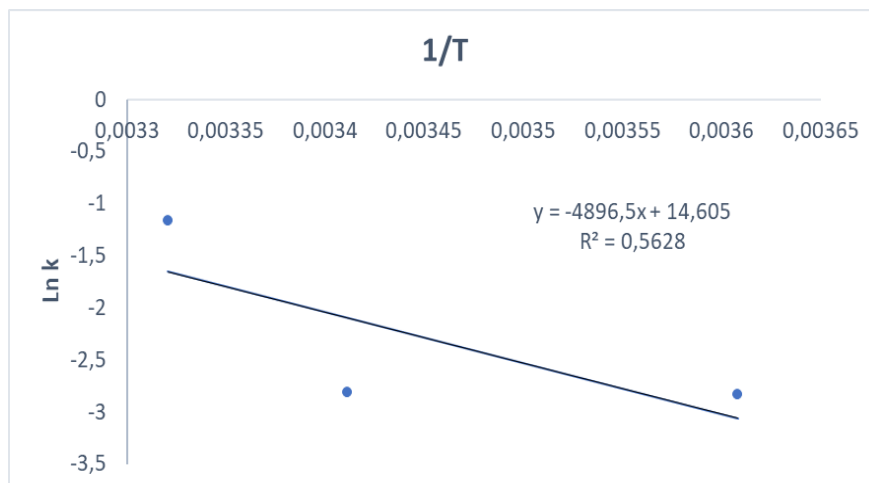


Figure 4 : Cinétique de la dégradation thermique de la vitamine C du jus de pomme de cajou conservé à 4°C, 20°C et TA en fonction du temps de stockage

La cinétique d'ordre zéro avait été utilisée avec succès pour décrire la dégradation de l'acide ascorbique pour des concentrations d'oxygène dans l'espace de tête inférieures à 0,63 % dans un jus de fruit [24], ainsi que dans des jus de fraises frais [25]. En revanche, le modèle cinétique de premier ordre est le plus utilisé pour décrire la dégradation oxydative de l'acide ascorbique [14 ; 12 ; 26 ; 27].

Au cours du stockage du jus de pomme de cajou clarifié et pasteurisé, la dégradation thermique de la vitamine C suit une cinétique d'ordre 1. Les coefficients de régression sont compris entre 0,903 et 0,942 et le logarithme des concentrations en vitamine C est proportionnel au temps de traitement.

La figure 5 représente de façon précise l'effet de la température sur la constante de vitesse de la réaction de dégradation de la vitamine C et le temps de réduction décimal dans le jus de pomme de cajou clarifié et pasteurisé.



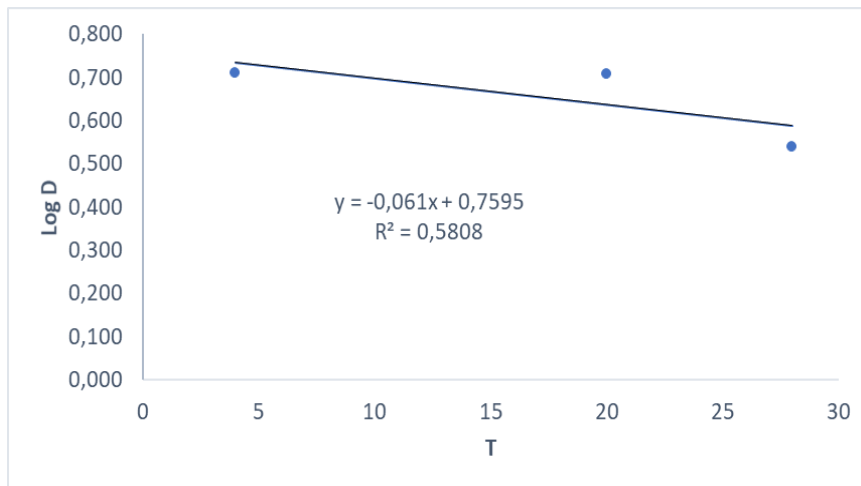


Figure 5 : Diagramme d'Arrhenius représentant l'influence de la température de stockage du jus de pomme de cajou clarifié et pasteurisé sur la constante de vitesse k – Diagramme de Bigelow du logarithme décimal de la valeur D en fonction de la température

Les coefficients de régression des courbes montrent une forte corrélation entre la température de stockage, le coefficient de vitesse et le temps de réduction décimal. Le coefficient de vitesse de réaction des différentes courbes était de -0,059 pour 4°C, -0,06 pour 20°C et -0,312 pour la température ambiante. Les valeurs k ont montré qu'il y avait une diminution de la concentration de vitamine C au fil du temps. La courbe plus raide à la température ambiante par rapport aux autres températures indique une dégradation plus importante de la vitamine C. Cela confirme le fait que la température est l'un des facteurs qui influence la dégradation de la vitamine C.

Le tableau I présente les valeurs des paramètres cinétiques que sont l'énergie d'activation (Ea), le coefficient de vitesse (k), le temps de réduction décimal (D), et le facteur de réduction décimal (z) entre 4°C, 20°C et à température ambiante pour le jus de pomme de cajou clarifié et pasteurisé.

Tableau 1 : Paramètres cinétiques de dégradation thermique de la vitamine C du jus de pomme de cajou clarifié et pasteurisé

Température	Modèle d'Arrhenius			Modèle de Bigelow		
	k (s ⁻¹)	Ea (KJ/mol)	R ²	D (s)	z (°C)	R ²
4°C	0,059	40,74	0,56	5,14	16,4	0,58
20°C	0,06			5,12		
TA	0,31			3,47		

Le tableau I nous indique que le temps de réduction décimal diminue avec l'élévation de la température alors que le coefficient de vitesse de réaction k augmente avec l'augmentation de la température. Ce qui permet d'expliquer la baisse de la teneur de cette vitamine thermosensible au cours du stockage du jus de pomme de cajou clarifié et pasteurisé. La dégradation de la vitamine C dans le jus de pomme de cajou

clarifié et pasteurisé est marquée par une valeur d'énergie d'activation (E_a) de 40,74 kJ/mol et d'un facteur de réduction décimal (z) égal à 16,4°C. Ces résultats sont en phases avec ceux obtenus par [28] lors de ces travaux sur l'étude de la dégradation de la vitamine C dans le jus d'agrumes. [28] a indiqué que ce fait est probablement lié aux caractéristiques intrinsèques des jus tels que la maturité des fruits transformés, le pH et le taux d'oxygène dissous. L'énergie d'activation du jus de pomme de cajou clarifié pasteurisé présente une valeur plus élevée que celles du nectar de prunes noires (4,091 KJ/mol) [16] et du nectar de baobab *Adansonia digitata* (27,2 KJ/mol) [29]. Cependant, le jus de pomme de cajou clarifié pasteurisé a un facteur z de valeur plus élevée que celle du nectar de prunes noires (3,4 °C) et moins élevée que celle du nectar de baobab *Adansonia digitata* (59,52°C).

CONCLUSION

Cette étude présente des données sur la dégradation de l'acide ascorbique dans le jus de pomme de cajou clarifié à la gélatine et pasteurisé. Nous retenons que la cinétique de la dégradation de la vitamine C était plus rapide à la température de stockage élevée (température ambiante). La vitamine C est un élément nutritif majeur dans la commercialisation et la consommation des jus de fruits. La stabilisation de ce nutriment pourrait permettre d'avoir un jus de pomme de cajou de qualité sur une longue période de conservation. Le stockage à une température réfrigérée semble être une méthode simple pour la conservation du jus de pomme de cajou clarifié et pasteurisé. Cette étude cinétique de la dégradation de la vitamine C dans le jus de pomme de cajou clarifié et pasteurisé peut être utile aux consommateurs afin de mieux comprendre la diminution de la qualité nutritionnelle des jus lors de la conservation.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]. **Lautié, E., M. Dornier, F. De Souza, M. and M. Reynes**, Les produits de l'anacardier : caractéristiques, voies de valorisation et marchés. Fruits (2001) 56 ; 235-248.
- [2]. **Michodjehoun-Mestres, L.**, Etude des composés phénoliques de la pomme cajou (Anacardium occidentale L.). Biochimie, chimie et technologie alimentaire. Montpellier, Université Montpellier II. Thèse de Doctorat. 2009.
- [3]. **Assunção, R. B. and A. Z. Mercadante**, Carotenoids and ascorbic acid from cashew apple (Anacardium occidentale L.): variety and geographic effects, Food Chemistry (2003) 81(4): 495-502.
- [4]. **Abreu**, Etude d'un procédé intégrant la microfiltration tangentielle pour la production d'extraits concentrés en caroténoïdes à partir de pommes de cajou. Sciences des procédés - Sciences des aliments. Montpellier, Université de Montpellier 2. Doctorat. 2012.
- [5]. **CODEX STAN 247-2005** : NORME GÉNÉRALE CODEX POUR LES JUS ET LES NECTARS DE FRUITS.
- [6]. **Uddin MS, Hawlader MNA, Luo Ding, Mujumdar AS.**, Degradation of ascorbic acid in dried guava during storage. Journal of food engineering (2002) 51 ; 21-26.
- [7]. **Martí N., Mena P., Cánovas J. A., Micol V., Saura D.**, Vitamin C and role of citrus juice as functional food. Natural Product communications (2009) 4 (5) 677-700.
- [8]. **Mazurek A., Pankiewicz U.**, Changes of dehydroascorbic acid content in relation to total content of vitamin C in selected fruits and vegetables. Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus (2012) 11 (6) 169-177.
- [9]. **Cortés C., Esteve M. J., Frigola A.**, Effect of refrigerated storage on ascorbic acid content of orange juice treated by pulsed electric fields and thermal pasteurization. European Food Research and technology (2008) 227 ; 629-635.
- [10]. **Gabriel A. A., Cayabyab J. E. C., Tan A. K., L., Corook M. L. F., Ables E. J. O., Tiangson-Bayaga C. L. P.**, Development and validation of a predictive model for influences of select product and process variables on ascorbic acid degradation in simulated fruit juice. Food Chemistry (2015) 177 ; 295-303.

- [11]. **Roig MG, Rivera ZS, Kennedy JF. A.**, Model study on rate of degradation of L-ascorbic acid during processing using home-produced juice concentrates. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* (1995) 46 ; 107-115.
- [12]. **Serpen A, Gökmen V.**, Reversible degradation kinetics of ascorbic acid under reducing and oxidizing conditions. *Food Chemistry* (2007) 104 ; 721-725.
- [13]. **Hsieh Y-H. P., and Harris ND.**, Effect of Sucrose on Oxygen Uptake of Ascorbic Acid in a Closed Aqueous System. *J. Agric. Food Chemistry* (1993) 41 ; 259-262.
- [14]. **Burdurlu, S. H., Koca, N., Karadeniz, F.**, Degradation of vitamin C in citrus juice concentrates during storage. *Journal of Food Engineering* (2006) 74(2), 211-216.
- [15]. **Polydera AC, Stoforos NG, Taoukis PS**, Comparative shelf life study and vitamin C loss kinetics in pasteurised and high pressure processed reconstituted orange juice. *Journal of Food Engineering* (2003) 60 ; 21-29.
- [16]. **KONE Haffiata**, Caractérisation biochimique et étude de la transformation du fruit du prunier des savanes (*vitex doniana*) en nectars. Thèse de doctorat, Ecole Doctorale Polytechnique de l'Institut National polytechnique Félix HOUPHOUËT-BOIGNY, Côte d'Ivoire, 2019.
- [17]. **Tillmans, H.P. & Hirsch, W.**, *Ztschr. Unters. Lebensmittel* (1932) 63, 1-21.
- [18]. **Kaddumukasa, P. P., Mathara, J.M., Imathiu, S.M. & Nakavuma, J.L.**, Microbiological quality and storage stability of fresh fruit and vegetable juice blends sold in Kampala, Uganda. *RUFORUM Working Document Series* (2016) 14(2), 937- 942. ISSN 1607-9345.
- [19]. **Lee, S. H. & Chen, S. C.**, Rates of Vitamin C Loss and Discoloration in Clear Orange Juice Concentrate during Storage at Temperatures of 4–24 °C. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (1998) 46(11), 4723–4727.
- [20]. **Robertson, G.L. & Samaniego, C. M. L.**, Effect of initial dissolved oxygen levels on the degradation of ascorbic acid and the browning of lemon juice during storage. *J Food Sci* (1986) 51(1), 184–92.
- [21]. **Makanjuola, O. M., Adepegba, A. O., Ajayi, A. & Makanjuola, J. O.**, Effect of Different Preservation Methods on the Quality Attributes of Some Tropical Fruit Juices. *ABR* (2013) 4(4) ; 74-78.
- [22]. **Elgamouz, S.**, Le suivi de la teneur de la vitamine C dans un jus industriel. Mémoire de master sciences et techniques, Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, 1-54. 2016.
- [23]. **Larisch, B., Groß, U. & Pischetsrieder, M.**, On the reaction of L-ascorbic acid with propylamine under various conditions: Quantification of the main products by HPLC/DAD. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung* (1998) 206(5) ; 333-337.
- [24]. **I. Van Bree , J.M. Baetens , S. Samapundo , F. Devlieghere, R. Laleman , I. Vandekinderen , B. Nosedá, R. Khaferi, B. De Baets, B. De Meulenaer**, Modelling the degradation kinetics of vitamin C in fruit juice in relation to the initial headspace oxygen concentration, *Food Chemistry* (2012) 134 ; 207-214.
- [25]. **Lanny Sapei, Lie Hwa**, Study on the Kinetics of Vitamin C Degradation in Fresh Strawberry Juices *Procedia Chemistry* (2014) 9 ; 62 - 68.
- [26]. **Vicente Bosch, Antonio Cilla, Guadalupe García-Llatas, Victoria Gilabert, Rafael Boix, Amparo Alegría**, 2013. Kinetics of ascorbic acid degradation in fruit-based infant foods during storage. *Journal of Food Engineering* (116) 298-303.
- [27]. **Polydera A. C., Stoforos N. G., Taoukis P. S.**, Quality degradation kinetics of pasteurised and high pressure processed fresh Navel orange juice : Nutritional parameters and shelf life. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* (2005) 6 ; 1-9
- [28]. **Dhuique-Mayer, C.**, Evaluation de la qualité nutritionnelle des jus d'agrumes : estimation in vitro de la biodisponibilité des caroténoïdes. Thèse de doctorat, Université Montpellier II, France, 2007.
- [29]. **Cissé I.**, Caractérisation des propriétés biochimiques et nutritionnelles de la pulpe de baobab des espèces endémiques de Madagascar et d'Afrique continentale en vue de leur valorisation. Thèse de doctorat, Montpellier SUPAGRO, France, 2012.

C23

***Quassia undulata* oil exploitation : extraction's yield, phytochemical profile of seeds and oilcake nutritional value**

Ndiaye Seyni ^{1,3}, NDIAYE Bou ¹, Samb Diodio¹, Cissé Oumar Ibn Khatab¹, Gueye Mathieu², Qi Zhang³,
Ayessou Nicolas Cyrille Mensah^{*1}

¹ Center for Studies on Food Safety and Functional Molecules (CESAM-RESCIF), ESP-UCAD, Dakar (Sénégal)

²Institut Fondamentale d'Afrique Noire (IFAN) Cheikh Anta Diop, Département de botanique et de géologie

³Oil Crops Research Institute of Chinese Academy of Agricultural Sciences (OCRI-CAAS)

*Email : nayessou@yahoo.fr/ nicolas.ayessou@ucad.edu.sn

Résumé

Introduction/Objectifs : *Quassia undulata* (GUILL. & PERR.) est une plante qui appartient à la famille des Simaroubaceae. En Afrique, elle est présente dans la savane boisée du Sénégal à l'ouest jusqu'à la République centrafricaine à l'est. Les graines de la plante sont très riches en huile. L'extraction traditionnelle de cette huile passe par une phase d'ébullition de la poudre des graines dans une décoction de feuilles de *Piliostigma thonningii* (PD). Ainsi, l'objectif de cette étude est de déterminer l'impact des feuilles de *Piliostigma thonningii* sur le rendement d'extraction et les paramètres physico-chimiques, d'évaluer le profil phytochimique des graines et des tourteaux et, de déterminer la valeur nutritionnelle des tourteaux obtenus après extraction.

Matériel et méthodes : L'extraction traditionnelle de l'huile a été réalisée en laboratoire et des analyses physico-chimiques et phytochimiques ont été faites sur la décoction d'eau, sur l'huile et sur les tourteaux.

Résultats et discussion : Les résultats ont montré que l'extraction traditionnelle donne un faible rendement d'extraction (5,18% avec PD et 6,12% sans PD) par rapport à l'extraction au Soxhlet (56,9%). En revanche, il a été constaté que l'huile obtenue par extraction traditionnelle en présence des feuilles de *Piliostigma thonningii* était de meilleure qualité physico-chimique. Enfin, les tourteaux très riches en protéines (36.71 à 42.69%) et éléments minéraux (110.9-152.33 mg/100g de Calcium, 544.75-620.77 mg/100g de Potassium et 331.11-459.68 mg/100g de Magnésium) justifient leur utilisation en alimentation humaine.

Conclusion : L'huile obtenue après extraction avec PD est de meilleure qualité physico-chimique. Cependant, les études futures devraient se concentrer sur l'impact de cette technique traditionnelle d'extraction sur l'élimination des quassinoïdes, des toxines et des composés antihelminthiques présents dans les graines.

Mots clés : *Quassia undulata*, extraction traditionnelle, *Piliostigma thonningii*, composés phytochimiques

Physicochemical and phytochemical characterization of the oil and cakes of the seeds *Quassia undulata* (GUILL. & PERR.)

Abstract

Quassia undulata is a plant that belongs to the Simaroubaceae family. In Africa, it occurs in the wooded savannah from Senegal in the west to the Central African Republic in the east. The seeds from the plant are very rich in oil. The traditional extraction of this oil involves a phase of boiling the powder from the seeds in a decoction of *Piliostigma thonningii* leaves. Thus, the aim of this study is to determine the impact of *Piliostigma thonningii* leaves on the extraction yield, to assess the phytochemical profile of seeds and oilcake and, to determine the nutritional value of the cakes obtained after extraction. Thus, the traditional extraction of oil was carried out in the laboratory and physico-chemical and phytochemical analysis were carried out on the water decoction, the oil and, on the oilcake. The results showed that the traditional extraction gives a low extraction yield (5.18% with PD et 6.12% without PD) compared to the Soxhlet extraction (56.9%). On the other hand, it was found that oil obtained by traditional extraction in the presence of *Piliostigma thonningii* leaves was of better physicochemical quality. Finally, oilcake very rich in proteins (36.71 à 42.69%) and mineral elements (110.9-152.33 mg/100g of calcium, 544.75-620.77 mg/100g of Potassium et 331.11-459.68 mg/100g of Magnesium) justify their use in human food. However, investigations should point to the impact of this traditional technique on the elimination of quassinoids, toxin and antihelminth compounds present in the seeds.

Keywords : *Quassia undulata*, *Piliostigma thonningii*, oil extraction, phytochemical

1. Introduction

The species *Quassia undulata* (*Q.undulata*), in Africa, occurs in the wooded savannah and is a small tree that can grow up to 8 m high [1]. *Q.undulata* belongs to the Simaroubaceae family [2] which includes 32 genera distributed in 170 species of trees and shrubs exclusively distributed in the tropics and subtropics [3]. The bitter taste of all the parts of the plants of this family constitute one of their botanical identification criteria. These molecules mainly quassinoids is taxonomic markers of Simaroubaceae [3], [4]. In Senegal, the tree is found from Casamance region [5] to Kédougou region [2]. The oil from the seeds of *Q.undulata* is a good raw material for the production of high quality biodiesel [6] that still extracted traditionaly [7]. In Africa, the traditional way of extracting oil is mainly a mixture of water and powdered seeds. Mixing can be done at normal room temperature or at high temperature (boiling step) to separate the oil from the ashes [8]. Argan oil in Morocco [9], *Elaeis guineensis* oil, *Butyrospermum parkii* oil [10] or *Carapa oil* (*Carapa* spp. Meliaceae)[11] are extracted in that way. In some cases, plant leaves are added during the boiling step such as *Carapa procera*. The same procedures have been observed during traditional extraction of *Q.undulata* oil [7]. However, the physicochemical properties of the oil vary depending on the extraction's method. Thus the objective of this study is to determine the impact of *Piliostigma thonningii* leaves on the extraction yield, on the phytochemical profile and, on the physicochemical characteristics. The aim is also to determine the nutritional value of the oilcakes after extraction.

2. Materials and Methods

2.1. Oilseed extraction

Oil extraction was done at the laboratory level on the one hand according to the traditional diagram and in another hand, by using Soxhlet method with hexane as solvent.

According to the traditional method, the powder of *Quassia undulata* seed was boiled in one part with the decoction of the leaves of *P. thonningii* and in another part with distilled water [7]. The oil was weighed at the end of the experiment. A second comparative extraction by solvent was done by using a Soxhlet extractor using hexane, during 6 hours. The total fat content, expressed as a percentage of the mass of the product, is given by the following formula:

$$MG = \frac{(M2 - M1)}{PE} * 100$$

PE: mass in grams of the test sample.

M1: mass in grams of the flask.

M2: mass in grams of the flask and the residue

MG: fat content in percentage

2.2. Phytochemical screening of seeds

The presence of saponins, tannins, steroids, flavonoids, and terpenes was evaluated in the decoction of *P. thonningii* leaves before and after oil extraction and in the oilcake.

2.2.1. Saponin detection

The experiment was as conducted according to different authors [12, 13, 14]: Macerate for 24 hours 5g of powder in 500 ml of distilled water and evaporate to dryness; recover the residues with 10 ml of distilled water; take 30 ml of the solution in 2 test tubes and shake for one minute and let stand for 30 minutes and finally measure the height of the persistent foam that indicates the presence of saponins.

2.2.2. Flavonoids detection

Transfer 3ml of each aqueous extract in two test tubes: add 1ml of KOH and the other 1ml of NaOH. The appearance of deep stains testifies the presence of flavonoids [12].

2.2.3. Tannins detection

A few drops of 1% neutral ferric chloride solution were added to the plant extract. Blackish-blue color development indicates tannins' presence [15].

2.2.4. Terpenes detection

According to the "Salkowski test," 5 ml extract was added with chloroform 2ml and concentrated sulphuric acid 3ml. A reddish-brown color of interface state of a positive result [14].

2.2.5. Steroids detection

The experiment was done accordingly to the "Liebermann-Burchardt test." To 1ml of methanolic extract, chloroform 1ml, acetic anhydride 2 to 3ml, and concentrated sulphuric acid 1 to 2 drops were added. A positive result is obtained when the color change to blue or green [14].

2.2.6. Polyphenols detection

The experiment was done according to Ferric Chloride Test. To 2 ml of extract add alcohol and few drops of neutral ferric chloride solution. Formation of greenish blue colour indicates the presence of polyphenol [16].

2.3. Quantitative phytochemical characterization

Tannins were evaluated according to the colorimetric method of Folin Denis, described by Joslyn, (1970) [17]. **Flavonoids** were determined according to previous author [18]. **Total phenolics** were evaluated using the spectrophotometric analysis with Folin-Ciocalteu's phenol reagent [19].

2.4. Oil physicochemical analysis

Oil samples traditionally extracted were subjected to chemical analysis. All the analysis was done in duplicate, and the results were given as mean \pm standard deviation. The acid index was determined according to the standard method NF ISO 660, while the Iodine index was conducted according to the standard method NF ISO 3961. The standard method NF ISO 3657 method was used to determine saponification index and NF ISO 3960 for peroxide index. The refractive index was determined on the perfectly anhydrous and filtered sample according to standard method NF ISO 6320 with a refractometer.

2.5. Oilcake physicochemical characterization

Total sugar was determined according to Luff-Schoorl method; Proteins according to Kjeldahl method and mineral elements (Ca^+ , Na^{2+} , Mg^{2+} and K^+) using ionic chromatography method.

3. Results and discussion

3.1. Extraction yield

Soxhlet extraction gave an oil with a yield of 56.9%. This yield is quite similar to 55.6% obtained by Mirailles et al. 1988[20]. The traditional way, carried out at the laboratory gave a yield of 6.12% with *P. thonningii* decoction (PD), and 5.18% without *P. thonningii* decoction. These values agree with those obtained during the survey done with women from Kedougou/Senegal (5.4% with PD and 5.3% without PD)[7]. There is no significant difference in oil extraction yield when the PD is used or not. Therefore the *P. thonningii* leaves role would be more to improve the oil physicochemical quality than to improve the extraction yield. However, oil extraction made with Soxhlet gave a yield 10 times higher than oil extraction done with traditional mode which is normal because soxhlet extraction is known to give the best conditions of extraction [21], [22]. **Table 1** gives the results of extraction yield according to extraction mode.

Table 1: Oil extraction yield according to extraction mode

Extraction mode	Yields (%)
Soxhlet extraction	56.9 ^a
TE with PT Lab	6.12 ^b
TE without PT Lab	5.18 ^b

*same letter shows no significant differences

3.1. Phytochemical profil of *P. thonningii* 's decoction

Phytochemical tests were carried out on the decoction of *P. thonningii* leaves before and after oil extraction and on the oilcake. These tests consisted of qualitative and quantitative examinations of different elements. The results are given in **Table 2** and **Figure 1**

3.2.1. Phytochemical qualitatif tests results

The *P. thonningii* decoction before and after extraction shows that tannins, polyphenols, steroids, flavonoids, saponins and, terpenes are normally present in the *Pilliosigma* leaves. This observation confirm previous results [22,23,24]. However, their amount increased after oil extraction. In fact, compounds' move from the seeds to the water decoction during the oil extraction. Indeed, polyphenols [26], tannins [27], flavonoids [28], saponins [29] and terpenes [30] are usually extracted in the presence of water or a mixture of water with another solvent. In the oilcake, tannins, saponins, flavonoids and, terpenes are present but in lower intensity than in the decoction after extraction. This lower presence can be due by the washing step noticed when doing the oil extraction. In fact, after oil extraction, oilcake is washed with water before its use as food [7]. Therefore, phytochemical compounds can be eliminated during this washing steps.

Table 2: *Pilliosigma* decoction qualitative phytochemical characterization

Compounds	<i>Pilliosigma</i> decoction before oil extraction	<i>Pilliosigma</i> decoction after oil extraction	Oilcake
Tannins	+	++	+
Polyphenols	+	++	ND
Steroids	+	++	ND
Saponins	+	+	+
Flavonoids	+	++	+
Terpenes	+	++	+

(-) absence

(+) presence

(++) presence in a higher level

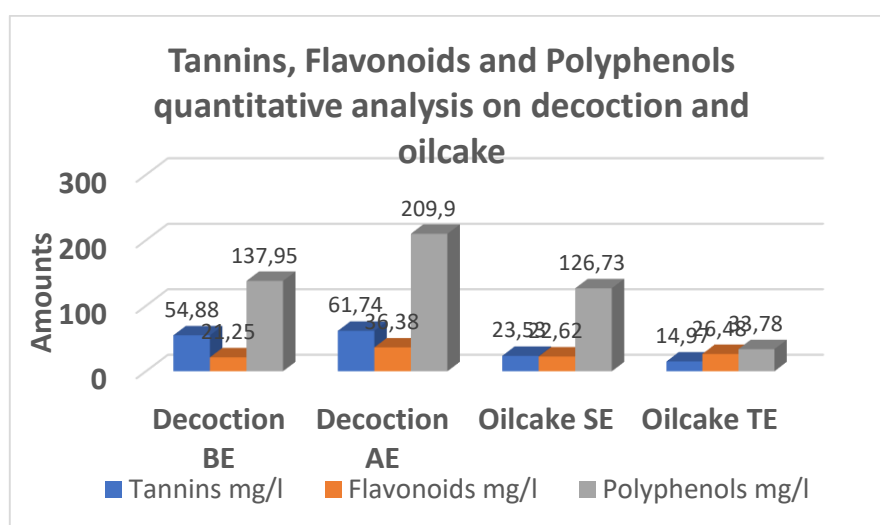
(ND) not determined

3.2.2. Phytochemical quantitative tests results

The quantitative analysis of the tannins, flavonoids and polyphenols on the oilcake shows a significant difference in the content of tannins, flavonoids, and polyphenols between the oilcake obtained by Soxhlet and the oilcake obtained by traditional extraction (**Figure 1**). However, the polyphenol content difference is much more significant with respective values of 126.73 mg/l and 33.78 mg/l. A better

affinity of polyphenol compound to water instead of hexane can explain it [31]. So, it appears that with the traditional extraction, phenolic compounds tend to be lowered in the oilcake.

The *Pilliosigma* decoction analysis shows that the polyphenolics compounds, the tannins, and the flavonoids amount increase after oil extraction. It highlights that these compounds moved from the seed to the decoction during the oil extraction. However, the tannins' and flavonoids' amount present in the oilcake is higher than in the decoction (tannins 6.86 against 14.97 and flavonoids 15.13 against 26.48). On the contrary to the polyphenolic compound content which is higher in the decoction (71.95 against 33.78).



*BE: before extraction; AE: after extraction; SE: Soxhlet extraction; TE: traditional extraction

Figure 1: Quantitative Phytochemical analysis of oilcake and *Pilliosigma* decoction before and after oil extraction

3.2. Physico-chemical parameters of *Q. undulata* oil

According to the extract methods, *Q.undulata* 's oil present various characteristics summarisez in **Table 3**.

Table 3: Physicochemical parameters of *Q.undulata*'s oil traditionally extracted

Parameters	Oil extracted with P D	Oil extracted without PD
Refraction value	1.462±0.000	1.462±0.000
Acid value (mg/g)	3.070±0.554	7.333±0.465
Saponification value (mg/g)	198.348±2.267	198.175±0.190
Peroxyde value (meq/kg)	4.453±0.042	4.944±0.523
Iodine value (g/100g)	30.041±0.072	21.455±2.440

It appeared that *Q.undulata* oil extracted with and without PD presented almost same peroxyd value, saponification value and refractive index. However, iodine value and acid value were quite different. The iodine value was more elevated in the oil extracted with PD and the acid value more elevated in the oil extracted without PD. Decrease in iodine value shows decrease in the number of double bonds and it indicates the oxidation of the oil [32] showing that *Q.undulata* oil is more oxidated when extracted without PD. The acid value is used as an indicator for the edibility of the oil. When the acid value exceeds 4 mg KOH /g, the oil is not suitable for edible purposes [33]. Therefore, oil obtained with TE without PD is not suitable for edible utilization because the acid value is about 7.333mgKOH/g. Therefore, these results show that oil extraction with PD gives better physico-chemical characteristics. In the future, tests can be made to identify the mechanism of oil quality improvement by PD leaves.

3.3. Oilcake nutritional value

After oil extraction, cake is consumed. Thus, it seems necessary to evaluate its nutritional value summarized in **Table 4**.

Table 4: Oilcake nutritional value of *Q. undulata*

Samples	Proteins %	Minerals				Total sugar (mg/100 g)
		Na (mg/100 g)	Mg (mg/100 g)	Ca (mg/100 g)	K (mg/100 g)	
Sample 1	42,69	32,91	459,68	152,33	620,77	1,05
Sample 2	36,71	16,35	331,11	110,9	544,75	1,15

*Sample 1 comes from Ebarack village and sample 2 from Eganga village (these villages are located in Salemata department in the Region of Kedougou in southeastern Senegal)

The protein and mineral contents are higher in the sample from Ebarack (sample 1). These differences could be due to the environmental factors [34], [35] or due to the quality of the seeds and storage parameters [36].

The protein content of the meal varies from 36.71 to 42.69%. These levels are comparable to those of soybean and peanut meal which are respectively 39.15g/100g and 32.17g/100g [37]. The sugar content on the other hand is very low (≈ 1 mg / 100g). Thus, *Q.undulata* meal could be used to feed poultry [38] or sheep [39].

Table 5: Comparison of mineral composition between sesame, peanut and *Quassia* seeds

Minerals (mg/100g)	Peanut [40]	Sesame [40]	<i>Quassia undulata</i>
Ca ²⁺	73.8	962	110.9 - 152.33
Mg ²⁺	315	324	331.11 - 459.68
K ⁺	980	468	544.75 - 620.77

From **Table 5**, it is showed that the magnesium content of *Quassia* seeds is higher than those of sesame and peanuts. The potassium content is also higher than that of sesame but however is much lower than that of peanuts. Regarding calcium, the values obtained for *Quassia* are higher than those for peanuts but much lower than those for sesame. These results show that *Quassia* seeds are a good source of protein and minerals. Their use as supplementation foods could indeed be considered. In fact, according to the FAO, the daily intakes of potassium [41], calcium, magnesium [42] and sodium [43] are respectively 3510 mg / day, 1000mg / day, 200mg / day and 2g / day for adults; therefore, *Quassia* seeds could help to complete these daily intakes.

Conclusion

This results allowe to continue investigations on the role of *P.* during *Quassia undulata* oil's extraction. It appeared that traditional extraction gives a low extraction yield that needs to be optimised. On the other hand, it was noted that the oil obtained by traditional extraction with *Piliostigma thonnigii* leaves decoction has a better quality. However, *Piliostigma thonnigii* key role on Quassinoids elimination should be determined. Finally, cakes which are rich in protein and mineral elements such as magnesium and potassium are a good resource for animal feed as well as for supplementation in human food.

Bibliography

Etude comparative de deux aliments à base de mil enrichis avec l'amande de cajou et du souchet

Comparative study of two millet-based foods enriched with cashew kernel and tiger nut

Sékou TRAORE¹, Akaki Koffi DAVID², Kisselmina KONE³, KOUASSI Esaïe Kouadio APPIAH⁴, Doudjo SORO⁵

^{1,2,3,4,5} Laboratoire des Sciences des Procédés Chimiques et Environnementaux, UMRI 58, INPHB, Yamoussoukro

Résumé :

Dans un contexte d'insécurité alimentaire, les protéines animales bien que considérée comme une référence en termes de qualité nutritionnelle reste inaccessible à plusieurs ménages d'où l'utilisation des protéines végétales qui représentent une opportunité pour répondre aux besoins. Cependant ces dernières sont souvent moins bien équilibrées en acides aminés indispensables que les sources animales, cela nécessite une complémentarité entre sources. Une étude comparative de deux aliments fortifiés a été réalisée pour déterminer leur teneur en vitamines A et E et leur profil en acides aminés. L'un binaire obtenu à partir de farine de mil enrichie à 14,30 % d'amande de cajou et l'autre ternaire obtenu à partir de farine de mil enrichie à 5 % d'amande de cajou et 11,80 % de souchet. Les résultats des teneurs en vitamine A et E dans le mélange binaire ont été respectivement de $57,5 \pm 0,5$ mg/100g et $14,95 \pm 0,106$ mg/100g contre respectivement $71 \pm 2,30$ mg/100g et $19,5 \pm 0,1$ mg/100g dans le mélange ternaire. Les teneurs en vitamines du mélange ternaire étaient significativement supérieures ($P \leq 0,05$) à celles du mélange binaire. Le profil en acides aminés indique la présence des huit acides aminés essentiels dans les deux échantillons. Cependant la lysine et l'isoleucine avec respectivement des teneurs de $3,61 \pm 0,03$ mg/g et $4,2 \pm 0,004$ mg/g, dans le mélange binaire contre $4,02 \pm 0,036$ mg/g et $3,74 \pm 0,05$ mg/g, dans le mélange ternaire ont été les plus représentatifs. En somme, l'enrichissement améliore la valeur nutritionnelle des farines composites.

Mots clés : mil, souchet, amande de cajou, acides aminés

Abstract

In a context of food insecurity, animal proteins, although considered a reference in terms of nutritional quality, remain inaccessible to many households, hence the use of vegetable proteins which represent an opportunity to meet needs. However, the latter are often less well balanced in essential amino acids than animal sources, which requires complementarity between sources. A comparative study of two fortified foods was carried out to determine their vitamin A and E content and their amino acid profile. One binary obtained from millet flour enriched with 14.30% cashew kernels and the other ternary obtained from millet flour enriched with 5% cashew kernels and 11.80% tiger nut . The results

of the vitamin A and E contents in the binary mixture were respectively 57.5 ± 0.5 mg/100g and 14.95 ± 0.106 mg/100g against respectively 71 ± 2.30 mg/100g and 19.5 ± 0.1 mg/100g in the ternary mixture. The vitamin contents of the ternary mixture were significantly higher ($P \leq 0.05$) than those of the binary mixture. The amino acid profile indicates the presence of all eight essential amino acids in both samples. However, lysine and isoleucine with respectively contents of 3.61 ± 0.03 mg/g and 4.2 ± 0.004 mg/g, in the binary mixture against 4.02 ± 0.036 mg/g and 3.74 ± 0.05 mg/g, in the ternary mixture was the most representative. In short, fortification improves the nutritional value of composite flours.

Keywords : millet, tiger nut, cashew kernel, amino acids

1- INTRODUCTION

La population ivoirienne est victime du double fardeau de la malnutrition qui se caractérise par la surnutrition (obésité, surpoids) et la sous-nutrition (retard de croissance, malnutrition aiguë, insuffisance pondérale) [1]. La malnutrition survient généralement à l'âge de 6 mois quand le lait maternel seul ne suffit pas pour couvrir les besoins énergétiques de l'enfant [2]. Il est recommandé alors l'incorporation d'aliment de complément. Les aliments de complément ou aliments de sevrage sont utilisés comme complément au lait maternel lorsque l'enfant atteint son 6^{ème} mois [3]. Les aliments de complément sont les premiers aliments que le nourrisson consomme lorsque le lait maternel devient insuffisant pour subvenir à ses besoins. Cet aliment doit être nutritionnellement riche car conçu pour couvrir les besoins nutritionnels de l'enfant [2] à l'instar des farines commerciales. Les farines commerciales importées constituent des solutions pour combler les besoins énergétiques des nourrissons mais leur inaccessibilité par la plupart des ménages du fait de leur coût élevé en fait un facteur limitant. Une alternative à cette situation est l'utilisation de matières premières localement accessibles pour couvrir les besoins du nourrisson [2].

En Côte d'Ivoire les aliments de complément sont généralement à base de céréales et de tubercules [4]. Le mil (*Pennisetum glaucum*) fait partie des céréales les plus cultivées dans les pays du sud. Cette céréale présente une valeur nutritive relativement supérieure à celle du riz, du blé et du maïs et est souvent utilisée pour la confection d'aliment de complément pour enfant [5]. Mais à l'instar de la plupart des produits céréaliers et des tubercules, le mil ne présente pas des teneurs en protéines et en micronutriments suffisants pour couvrir les besoins nutritionnels de l'enfant [6]. Une alternative de lutte contre la malnutrition est donc l'enrichissement de ces produits locaux [7]. Les légumineuses ont souvent été utilisées pour la fortification d'aliments de complément, parmi elles, l'amande de cajou. L'amande de l'anacarde est une source importante de nutriments. Cette légumineuse du fait de sa richesse en éléments nutritifs (micro et macronutriments) pourrait être utilisée pour la fortification de farines à base de mil [8]. Elle présente de bonnes teneurs en protéines [9]. La noix de cajou présente une bonne valeur nutritionnelle par sa teneur en protéine (20-24g/100g), en glucide (23-25g/100g), en lipide (40-57g/100g) [10,11,12] et en minéraux [13]. Cependant la teneur en composés bioactifs pourrait aussi être

renforcée par d'autres produits locaux tel le souchet. Le souchet se présente comme une alternative dans la fortification d'aliment de complément du fait de sa richesse en fibres, en polyphénols, en anti oxydants, en vitamines, en composés bioactifs [14, 15] et en acides aminés essentiels [16].

Dans ce travail, Il a été question de déterminer la valeur nutritive de deux aliments composés faits à base de produits locaux afin de les proposer aux ménages pour la lutte contre la malnutrition infantile.

2- MATERIEL ET METHODES

2 – 1 Matériel

Trois matières premières locales ont été utilisées. Ce sont l'amande de cajou (*Anacardium occidentale L.*) le souchet (*Cyperus esculentus*) et le mil (*Pennisetum glaucum*). Le mil et le souchet ont été obtenus sur le marché de la ville de Yamoussoukro (6°53'04.7'' Nord et 5°13'54.9'' Ouest) au centre de la Côte d'Ivoire. Les amandes de cajou ont été fournies par l'usine école de l'Institut National Polytechnique de Yamoussoukro (Côte d'Ivoire).

2– 2 Méthodes

2-2-1 Production de la farine de mil

Une quantité de 500 g de mil achetés sur le marché sont triés et lavés trois fois de suite. Les grains de mil ont été séchés dans un séchoir électrique à claies à 70°C pendant 17h. Un Blender Philips Laboratoire (HR2811 modèle) de mailles 60 mm de diamètre a servi à tamiser les grains de mil. Le mil tamisé a été stocké dans des sachets en plastique hermétiquement fermé et déposé à la température ambiante.

2-2-2 Production de la farine d'amande de cajou déclassée

La production de la farine d'amande de cajou déclassée a été inspirée par la méthode décrite par [17] modifiée. Les amandes de cajou déclassées obtenues sont concassées à l'aide d'un broyeur semi-artisanal (*YIBU DE TYPE 30* chine). Les amandes concassées ont été passées à un séchoir électrique à claies à 70°C pendant 17h. Les amandes séchées sont broyées à l'aide d'un broyeur à tamis 200 microns. La farine d'amande obtenue est conservée dans des pots en plastique à la température ambiante.

2-2-3 Farine de souchet

Les grains de souchets achetés au grand marché de Yamoussoukro ont été triés pour les débarrasser des impuretés puis lavés plusieurs fois avec de l'eau propre. Les grains ont été séchés dans un séchoir électrique à claies et torréfiés à 100°C pendant 45 mn dans un torréfacteur ouvert. Les grains sont ensuite retirés et déposés dans un plateau en inox pour le refroidissement puis passés au broyage dans un broyeur à marteau. La farine de souchet obtenue est stockée dans des sachets en plastique pour la conservation en attendant les analyses.

2-2-4 Formulation de farines composées :

Deux qualités de mélange ont été élaborées : un mélange binaire et un mélange ternaire. Ces proportions ont été retenues suite à un plan de mélange qui a abouti à ces teneurs via le logiciel design expert.

Tableau 1 : Mélange binaire de la farine de mil et d’amande de cajou

Produits locaux	Mil	Amande de cajou déclassée
Quantités (%)	85,70	14,30

Tableau 2 : Mélange ternaire de la farine de mil, de la farine d’amande de cajou et du souchet

Produits locaux	Mil	Amande de cajou déclassée	Souchet
Quantité (%)	83,20	5	11,80

2-2-5 Analyses physico-chimiques

Les analyses sont réalisées en triple afin d’en faire la moyenne pour la détermination du paramètre considéré.

Protéines

La méthode de Kjeldal a été utilisée pour déterminer **le taux de protéines brutes**. Le pourcentage d'azote (% N) a été utilisé pour le calcul du taux de protéine brute (% P) à partir de l'équation ci-dessous [18]:

$$\% P = 6,25 \% N$$

Le dosage des protéines a été fait par HPLC (High Performance Liquid Chromatography) en subissant une hydrolyse acide de leurs protéines.

Acides aminés

La méthode inspirée de [19] a été utilisée pour la préparation des échantillons d’hydrolysats. Un volume de 200 mg de chaque échantillon et un volume de 5 ml de HCL 6 N ont été prélevés progressivement et introduits dans des tubes d’hydrolyse bien fermés. L’ensemble est passé à l’incubation à 110°C. 24H après les tubes sont retirés de l’incubateur et passés au filtre. Une évaporation à sec à 140°C pendant 1H a été réalisée sur 200 mL du filtrat. Les hydrolysats ont été séchés puis dilués avec 1 mL de tampon citrate 0,12N, pH2,2. Dans une colonne de séparation de cations à 130°C, il a été injecté un volume de 150 µl d’échantillon d’aliquote. Un réacteur de forte performance présentant un débit de 0,7 mL/min est utilisé pour recevoir une solution de ninhydrine et un tampon éluant concomitamment. Afin d’accélérer la réaction chimique des acides aminés avec la solution de ninhydrine le mélange constitué de la solution tampon et de la ninhydrine a été chauffé dans le réacteur

à 130°C pendant 2 minutes. Un spectrophotomètre à double canal a permis de lire les longueurs d'onde respectivement à 570 nm et à 440 nm du mélange. Le profil en acides aminés a été obtenu par les surface d'étalons obtenus.

Dosage des vitamines liposolubles (A et E)

L'extraction des vitamines liposolubles (A et E) a été réalisée selon la méthode décrite par [20]. A 1,0 g de l'échantillon, on a ajouté 10 mL d'une solution de KOH 10% dans du méthanol-eau (1 : 1, v/v). Pour éviter le processus d'oxydation au cours de la saponification, on a ajouté 0,025 g d'acide ascorbique. Le mélange est ensuite porté au reflux dans un bain-marie à 70°C pendant 30 min. le mélange est ensuite refroidi et extrait avec 3 x 5mL d'hexane. Les phases hexaniques ont été réunies et séchées sur du sulfate de sodium anhydre puis évaporées à sec. Le résidu obtenu (environ 0,3 g) est repris dans du méthanol (10 mL) pour l'analyse. L'évaluation des teneurs en vitamines liposolubles a été faite par HPLC couplé à un détecteur fluorimétrique. L'analyse est faite en mode isocratique sur colonne Hypersil ODS RP18 (phase stationnaire) ,5 µm diamètre des particules et 4.6 mm diamètre. La phase mobile est un mélange Acétonitrile/méthanol (80 : 20, v/v) avec un débit de 1 mL/min. Les standards ont été préparés par des séries de dilution (au 1/10^e puis au 1/2) :

- α -tocophérol (E) :3,4µg/100 mL ;
- Rétinol (A) : 11,3 µg/100 mL ;

Tous les calculs sont faits à partir du témoin 100%

Détection fluorimétrique : vit A (455 nm), vit E (295 nm)

Polyphénols

La méthode de Singleton et Rossi modifiée [21] a été utilisée pour la détermination des polyphénols. Un extrait d'un volume de 300 µl a été préparé. A cet extrait il a été ajouté respectivement 4,2 mL d'eau distillée, 0,75 mL de réactif de Folin Ciocalteu puis 0,75 mL de carbonate de sodium à 20% (P/V). A chaque ajout de réactif la solution est agitée puis mise à l'incubation pendant 30 minutes. Différentes concentrations (0 à 1000 microgrammes) d'acide gallique ont été utilisées pour réaliser la courbe d'étalonnage.

Flavonoïdes

Le protocole de dosage des flavonoïdes est basé sur celui décrit par [22, 23] modifiés. Dans un tube en verre contenant 120 µl de NaNO₂ à 5% il a été ajouté 400 µl d'extrait ou d'étalon ou de l'eau distillée (témoin). Une quantité de 120 µl d'AlCl₃ à 10% a été ajouté 5 mn après. L'ensemble a été agité et 6 mn après 800 µl de NaOH à 1M ont été introduits dans le mélange. La densité optique a été lue à 510 nm contre le témoin. Une courbe d'étalonnage a été tracée à partir de la solution méthanolique de quercétine.

Caroténoïdes

Une quantité de 2 g de chaque échantillon est introduit dans un tube. On ajoute 2 fois 2 mL d'hexane en présence d'échinénone à une concentration de 0,6 pmol/ μ l. La solution a été agitée puis centrifugée à 3 000 trs min⁻¹ pendant 5 min à - 5°C. les phases hexaniques sont récupérées et passées sur flux d'azote pour évaporation. Le résidu obtenu est ajouté dans 800 μ l d'acétonitrile afin d'obtenir une solution contenant 15 pmol/20 μ l du standard interne. Un volume de 20 μ l a été injecté [24].

2-2-6 Analyses statistiques des données

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel statistica 7.1. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type de mesure en triple. Une analyse de variance (ANOVA) a été effectuée et la significativité des différences entre les échantillons de farines est déterminée au risque d'erreur de 5% selon le test de Duncan.

3- RESULTATS

Tableau 3 : Teneurs en protéine dans les matrices de base

Paramètres	amande de cajou	Souchet	mil
Teneurs en protéines (%)	18,38 \pm 0,08	6,13 \pm 0,031	7,88 \pm 0,31

Tableau 4 : Teneurs en acides aminés dans le mélange binaire (mg/g)

Amande de cajou (%)	Mil (%)	lysine	L-méthionine	Histidine	isoleucine	leucine	valine	phénylalanine	thréonine	tryptophane	tyrosine	arginine
14,3	85,7	3,61±0,03	0,08±0,002	0,34±0,01	4,20±0,004	1,91±0,017	0,88±0,041	2,04±0,01	1,23±0,013	0	1,46±0,001	1,80±0,002

Tableau 5 : Teneurs en acides aminés dans le mélange ternaire (mg/g)

Amande de cajou (%)	Souchet (%)	Mil (%)	L-méthionine	lysine	histidine	isoleucine	leucine	valine	Phénylalanine	Thréonine	tryptophane	tyrosine	arginine
5	11,80	83,20	4,02±0,036	0,05±0,003	0,37±0,002	3,74±0,005	2,04±0,001	0,68±0,002	2,16±0,001	1,07±0,0034	0	1,53±0,003	1,87±0,0034

Tableau 6 : Teneurs en composés bioactifs et en vitamines A et E dans le mélange binaire (MB)

Amande de cajou (%)	Mil (%)	Polyphénol (mg/100g)	Flavonoïde (mg/100g)	Caroténoïde (mg/100g)	vitamine A (mg/100g)	vitamine E (mg/100g)
14,3	85,7	104,5±1,73	16,25±0,026	1,55±0,132	57,5±0,5	14,95±0,106

Tableau 7 : Teneurs en composés bioactifs et en vitamine A et E dans le mélange ternaire (MT)

Amande de cajou (%)	Souchet (%)	Mil (%)	Polyphénol (mg/100g)	Flavonoïde (mg/100g)	Caroténoïde (mg/100g)	Vitamine A (mg/100g)	Vitamine E (mg/100g)
5	11,80	83,20	102±2,64	33,12±0,09	1,5±0,05	71±2,30	19,5±0,1

4- DISCUSSION

Deux échantillons ont servi à l'étude. L'échantillon fait à base de mil (85,70%) enrichi à l'amande de cajou déclassée (14,30%) est un mélange binaire nommé MB et l'échantillon fait à base de mil (83,20%) enrichi à l'amande de cajou (5%) et au souchet (11,80%) est un mélange ternaire nommé MT. Trois matières premières locales ont été utilisées pour la formulation de deux qualités d'aliments de complément. Les teneurs en protéine des échantillons de base (tableau 3) ont varié de $6,13 \pm 0,031$ % à $18,38 \pm 0,08$ %. La plus forte teneur a été observée dans l'amande de cajou soit 18,38%. Des teneurs élevées en protéine avaient été indiquées dans l'amande de cajou [25]. La plus faible teneur protéique a été observée dans le souchet, cela pourrait s'expliquer par le séchage car un séchage bien mené diminuerait la teneur en protéine du souchet [26]. La teneur en protéine du mil est sensiblement égale à celle du blé et du maïs [27]. Le mil même s'il présente dans cette étude une teneur protéique plus élevée que le souchet n'est cependant pas considéré comme une source fiable de protéine car la majorité des protéines du mil serait de mauvaise qualité. Il est constitué généralement de prolamine qui est une protéine de qualité médiocre [27]. Cependant, la valeur nutritionnelle d'une protéine est liée à sa capacité à satisfaire les besoins de l'organisme en azote et en acides aminés essentiels [28].

Les résultats des teneurs en acides aminés des mélanges binaires (tableau 4) indiquent une présence de plusieurs acides aminés dont les acides aminés essentiels. Il est à noter des concentrations élevées en certains acides aminés tels que la lysine ($3,61 \pm 0,03$ mg/g), l'isoleucine ($4,20 \pm 0,004$ mg/g), la phénylalanine ($2,04 \pm 0,01$ mg/g) par rapport aux autres acides aminés. Ces acides aminés ont des rôles physiologiques importants dans le développement des enfants. Cela pourrait être dû à la richesse de l'amande de cajou en acides aminés dont le taux élevé dans le mélange a certainement contribué à améliorer le profil en acides aminés [29]. Dans le mélange ternaire (tableau 5), bien que la teneur en amande de cajou baisse (elle est passée de 14,30% dans le mélange binaire à 5% dans le mélange ternaire), on constate une amélioration des teneurs en lysine, en histidine, en leucine et en phénylalanine par rapport aux teneurs de ces acides aminés dans le mélange binaire. Cela pourrait être dû à la présence du souchet dans le mélange ternaire et de l'effet de la torréfaction qui améliorerait les teneurs en acides aminés comme mentionné par [29].

Diminuer la teneur en amande de cajou dans le mélange sans que cela impacte négativement le profil en acides aminés du mélange se présente comme un atout car bien que l'amande de cajou soit un produit local disponible en quantité élevée en Côte d'Ivoire, elle est cependant inaccessible du fait de son prix qui n'est pas à la portée de toutes les bourses. Il était donc important dans ce travail de proposer un produit composite final de bonne qualité nutritive tout en minimisant la teneur en amande de cajou. Il est à préciser qu'aucune céréale ne présente des teneurs suffisantes en acides aminés pouvant satisfaire les besoins de croissance des nourrissons et des jeunes enfants. Cependant de toutes les céréales cultivées

en Afrique subsaharienne le mil présente avec le riz le meilleur profil en acides aminés [28], ce qui justifie le choix du mil comme aliment de base pour la formulation d'aliment de complément dans cette étude.

Les teneurs en composés bioactifs et en vitamine A et E du mélange binaire sont présentées dans le tableau 6. On observe une forte teneur en polyphénols, en flavonoïdes, en vitamines A et E qui sont respectivement de $104,5 \pm 1,73$ mg/100g, $16,25 \pm 0,026$ mg/100g, $57,5 \pm 0,5$ mg/100g et $14,95 \pm 0,106$ mg/100g. Les teneurs en polyphénols, en flavonoïdes, en vitamine A et en vitamine E dans le mélange ternaire (tableau 7) sont respectivement de $102 \pm 2,64$ mg/100g, $33,12 \pm 0,09$ mg/100g, $71 \pm 2,30$ mg/100 g, $19,5 \pm 0,1$ mg /100g. On constate une augmentation des concentrations en flavonoïdes et en vitamine A et E du mélange binaire au mélange ternaire bien que les teneurs en amande de cajou baissent. L'amélioration des teneurs serait due aux taux élevés de composés bioactifs et des vitamines A et E dans le souchet [14, 15].

La diminution de la teneur en amande de cajou et l'incorporation du souchet ont permis une légère amélioration de la teneur en polyphénols, en flavonoïdes et en vitamine A et E. Le tableau 6 indique les teneurs en vitamine A et E du mélange binaire. Ces teneurs sont nettement améliorées dans le mélange ternaire avec la présence du souchet. Il est bien documenté que la vitamine E est majoritairement d'origine végétale [30]. Le souchet contiendrait des teneurs élevées en vitamines A et E [14, 15]. Ce qui reste un atout considérable car la carence en vitamine et en minéraux dans certains pays aurait pour conséquence la perte de 5% de leur produit national brute et ce, en pertes en vies humaines, en incapacité et en diminution de productivité [31]. Les résultats obtenus (tableau 7) suite à l'incorporation du souchet dans le mélange ternaire serait dus à la richesse de ce tubercule en composés bioactifs et en vitamine E. La teneur en vitamine E est passée de $14,95 \pm 0,106$ mg/100g dans le mélange binaire à $19,5 \pm 0,1$ mg/100g dans le mélange ternaire. Cette augmentation de la teneur en vitamine E contribue à améliorer la valeur nutritionnelle du mélange car la vitamine E en tant qu'antioxydant est connue pour sa capacité à inhiber les peroxydations lipidiques et à lutter contre les radicaux libres et les éléments non radicalaires produits lors de la formation des radicaux libres [30].

La lutte contre la malnutrition infantile passe non seulement par l'utilisation des produits locaux dans l'élaboration des farines infantiles [2] mais aussi et surtout par l'utilisation des aliments composés à base de légumineuses. Etant donné que les légumineuses contribuent significativement à la qualité nutritionnelle des aliments infantiles, il est plus qu'essentiel de les utiliser dans la mise en place des aliments de complément, cependant elles sont très peu utilisées à cet effet. Cette pratique aura un double avantage : d'abord améliorer la qualité nutritionnelle des aliments, ensuite cela contribuera à la valorisation du souchet en Côte d'Ivoire. Une seconde alternative est d'encourager les ménages à l'utilisation des farines composées comme aliment de complément car cela a pour avantage l'amélioration de la qualité du produit final. Une étude faite par [32] a indiqué que seulement 7% des ménages utilisent les farines composées comme aliments de complément. Alors qu'une étude avait

indiqué que la combinaison de deux ou plusieurs matières alimentaires à base de plante améliorerait la composition nutritionnelle de base et la qualité du produit formulé [29]. Les résultats obtenus dans ce travail sont significativement inférieurs ($P \leq 0,05$) à ceux obtenus par [29] dans la formulation de farine composite à base de maïs enrichi à l'amande de cajou. Cette différence s'expliquerait par les méthodes technologiques employées c'est-à-dire la fermentation, la germination et la torréfaction de l'amande de cajou. Il est reconnu que les méthodes technologiques telles que la fermentation et la germination augmenteraient la biodisponibilité et le contenu des nutriments dans les produits alimentaires [29]. L'utilisation des farines composées à base des produits locaux serait donc une solution locale durable à la lutte contre la malnutrition infantile.

5- CONCLUSION

L'objectif de cette étude était de proposer des formulations composites à base de produits locaux qui présenteront de bonnes teneurs en acides aminés, en produits bioactifs et en vitamine A et E. Deux qualités d'aliments ont été élaborés. Un mélange binaire obtenu à partir du mil enrichi à l'amande de cajou déclassée et un mélange ternaire à base de mil enrichi à l'amande de cajou et au souchet. Les résultats ont indiqué la présence des acides aminés essentiels dans les deux types de formulations, cependant le mélange ternaire a été mieux renforcé en polyphénols, en flavonoïdes et en vitamines A et E du fait de l'incorporation du souchet. Cela permet de valoriser les produits locaux et d'encourager les ménages à l'utilisation des aliments composites pour la formulation d'aliments de complément qui seraient un atout contre la malnutrition observée chez les nourrissons.

Références

- [1] EDS-MICS (2013) Enquête Démographique Et De Santé et à Indicateurs Multiples (EDS-MICS), Ministère de la Santé et de la Lutte Contre le Sida, République de Côte d'Ivoire.
- [2] OMS (2003) Rapport sur la santé dans le monde, façonner l'avenir, 213.
- [3] Bocquet A., Bresson J. L., Briend A., Chouraqui J. P., Darmaun D., Dupont C., Frelut M. L., Ghisolfi J., Goulet O., Putet G., Rieu D., Turck D., Vidaihet M., Merlin J. P. and Rives J. J. (2003). Alimentation du nourrisson et de l'enfant en bas âge. Réalisation pratique, 10(1) 76–81.
- [4] Amino A. K. K. A., Agbo E. A., Dago A. G., Gbogouri A. G., Brou D. K. and Dago G. (2015) Comparaison des Caractéristiques Nutritionnelles et Rhéologiques des Bouillies Infantiles Préparées par les Techniques de Germination et de Fermentation, 9(2) 944–953.
- [5] Vital M. (2018) Comité de l'Agriculture, *Millets Sorghum Forgot. foods Futur. Foodtank*, 1–9.
- [6] Fofana I. (2018). Thèse de doctorat présentée pour l'obtention du titre de Docteur de l'Université Félix HOUPHOUËT - BOIGNY Spécialité : Biochimie - Sciences des Aliments.
- [7] OMS (2005) Principes Directeurs pour l'Alimentation des Enfants de 6 à 24 mois qui ne sont pas Allaités au Sein, 44p.
- [8] Songré-ouattara L. T., Gorga K. and Savadogo A. (2016). Evaluation de l'Aptitude Nutritionnelle des Aliments Utilisés dans l'Alimentation Complémentaire du Jeune Enfant au Burkina Faso 41–50.
- [9] Soro D. (2012) MONTPELLIER SUPAGRO THÈSE Pour l'obtention du grade de Docteur.
- [10] Ogunwolu S. O., Henshaw F. O., Mock H. P., Santros A. and Awonorin S. O. (2009) Functional properties of Protein Concentrates and Isolates Produced from Cashew (*Anacardium occidentale L.*) nut, *Food Chem.*, 115(3) 852–858.
- [11] Yang J. (2009), Brazil Nuts and Associated Health Benefits: A Review, *LWT - Food Sci. Technol.*, 42(10) 1573–1580.
- [12] Nascimento A. N., Naozuka J. and Oliveira P. V. (2010) In vitro Evaluation of Cu and Fe Bioavailability in Cashew Nuts by off-line Coupled SEC-UV and SIMAAS, *Microchem. J.*, 96(1) 58–63.
- [13] Akinhanmi T. F. and Atasi V. N. (2008) Volume 2, Issue 1, 2008 Chemical Composition and

- Physicochemical Properties Of Cashew nut *J. Agric. Food Environ. Sci.*, 2(1) 1–10.
- [14] Allouh M. Z., Daradka H. M. and Ghaida J. H. A. (2015) Influence of *Cyperus esculentus* tubers (Tiger Nut) on male rat copulatory behavior 1–7.
- [15] Ndiaye B., Sakho M., Ayessou N. C., Cissé O. K., Cissé M. and Diop C. M. (2019) Optimization of a Tiger Nut-Based Yoghurt Formulation by Response Surface Methodology, 1400–1418.
- [16] Ban-Koffi L., Nemlin G. J., Lefevre S. and Kamenan A. (2005) Caractérisation Physico-Chimique et Potentialités Thérapeutiques du Pois Sucré (*Cyperus esculentus* L. CYPERACEAE), 17(1) 63–71.
- [17] Sze-Tao K. W. C. and Sathe S. K. (2000) Functional Properties and in Vitro Digestibility of Almond (*Prunus dulcis* L.) Protein isolate, *Food Chem.*, 69(2) 153–160.
- [18] AOAC (1990) Official Methods of Analysis of AOAC International, 16th ed, *Choice Rev.* 35 (2), 35-0912.
- [19] Moore S. and William S. (1963) Chromatographic Determination of Amino Acids by the Use of Automatic Recording Equipment 819–831.
- [20] Jedlicka A. and Klimes J. (2005) Determination of Water- and Fat-Soluble Vitamins in Different Matrices Using High-Performance Liquid Chromatography, 59(3).
- [21] Kayodé A. P. P., Hounhouigan J. D. and Nout M. J. R. 2007) Impact of Brewing Process Operations on Phytate, Phenolic Compounds and in Vitro Solubility of Iron and Zinc in Opaque Sorghum beer, *LWT - Food Sci. Technol.*, 40(5) 834–841.
- [22] Zhishen J., Mengcheng T. and Jianming W. (1999) The Determination of Flavonoid Contents in Mulberry and their Scavenging Effects on Superoxide Radicals, *Food Chemistry*, 64 (4) 555–559.
- [23] Kim D., Chun O. K., Kim Y. J., Moon H. and Lee C. Y. (2003) Quantification of Polyphenolics and their Antioxidant Capacity in Fresh Plums, 6509–6515.
- [24] Somé I. T., Zagré M. N. and Kafando P. E. (2004) Validation d’une Méthode de Dosage des Caroténoïdes par CLHP: Application à la Détermination de Teneur en Caroténoïdes dans dix Variétés de Patates Douces (*Ipomea batata* *Comptes Rendus Chim.*, 7 (10–11), 1063–1071.
- [25] Emelike N. J. T., Barber L. I. and Ebere C. O. (2015) Proximate, Minéral and Functional Properties of Defatted and Undefatted Cashew (*Anacardium occidentale* Linn.) kernel flour, *J. Chem. Inf. Model.*, 53(9) 1689–1699.
- [26] Maduka N. and Ire F. S. (2018) Tigernut Plant and Useful Application of Tigernut Tubers (*Cyperus esculentus*) - A Review, 29(3) 1–23.
- [27] Békoyé B. M. (2011) Caractérisation Chimique et Minérale des Grains de Mil [*Pennisetum glaucum* (L .) R . Br .] de Côte d ’ Ivoire 5(5) 2039–2044.
- [28] Lestienne I. (2004) Contribution à l’Etude de la Biodisponibilité du Fer et du Zinc dans le Grain de Mil et Conditions d ’Amélioration dans les Aliments de Complément.
- [29] Ijarotimi O. S., Oluwalana I. B. and Ogunedojutimi M. O. (2012) Nutrient Composition, Functional, Sensory and Microbial Status of Popcorn-Based Complementary Foods Enriched with Cashew Nut (*Anacardium occidentale* L) FLOUR *African J. Food, Agric. Nutr. Dev.*, 12(5) 6424–6446.
- [30] Cuvelier C., Dotreppe O. and Istasse L. (2003) Chimie , Sources Alimentaires et Dosage de la Vitamine E, 315–324.
- [31] Bellamy C. (1998) La Situation Des Enfants Dans Le Monde 96-163.
- [32] Kayode A. P. P., Akogou F. U. G., Hounkpatin W. A. and Hounhouigan D. J. (2013) Effets des Procédés de Transformation sur la Valeur Nutritionnelle des Formulations de Bouillies de Complément à Base de Sorgho, *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 6 (5) 2192–2201.

Effets de la technique de séchage utilisée sur les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et l'activité antioxydante, de cinq variétés de mange (*Mangifera indica*) séchées au Sénégal.

Résumé :

Les échantillons séchés viennent de Kaguitte un village situé dans la région Ziguinchor une zone très touchée par les pertes poste-récoles. Pour réaliser ce séchage trois techniques sont suivies : celle utilisée par les femmes de la localité (*Normal*) et deux techniques avec déshydratations osmotiques respectives de deux heures et de trois heures. Après épluchage, on observe que les variétés améliorées *Knt* et *Kt* ont le plus grand rendement de pulpes (60% de leur masse totale) et que la variété *Sl* a le plus faible rendement de pulpe. Nous avons étudié dans ce travail la variation des teneurs en antioxydants selon la technique et selon la variété. la méthode mise au point par (George et *al.*, 2005) pour le dosage des polyphénols et la méthode de Adaramola *et al.*, (2016) pour évaluation le pouvoir antioxydants. Pour le pouvoir antioxydant, le traitement subi par les échantillons diminue significativement les valeurs des quatre variétés (exemple : *Knt* normal-AAR=0,83%, le Traitement-2h-AAR=0,69% et traitement-3h-AAR=0,59%) à l'exception de la variété *Dr* (Normal-AAR=0,68% et le traitement-2h-AAR=0,79% et traitement-3h-AAR=0,78%). Le dosage des polyphénols totaux de ces échantillons a montré une variation beaucoup plus manifeste entre variétés et peu importante selon le traitement. Ainsi on a : *Knt* (normal-0,07g/100g, traitement-2h-0,03g/100g et traitement-3h-0,19g/100g), *Kt* (Normal-0,27g/100g, traitement-2h-0,07g/100g et traitement-3h-0,06g/100g) et *Sl*(Normal-0,11g/100g, traitement-2h-0,07g/100g et traitement-3h-0,21g/100g). Les analyses (*Variance* et *modèle linéaire*) montrent que les variétés *Knt* (traitement-2h-0,0087g/100g et normal-0,0033g/100g), *Dr* (traitement-2h-0,0023g/100g et normal-0,0019g/100g) et *Sl* (traitement-2h-0,0023g/100g et normal-0,0017g/100g), présentent respectivement de teneurs en flavonoïdes importantes. La technique utilisée (*Normal*) par les unités de la localité conserve bien les composés antioxydants et Dans certains cas il est nécessaire de traiter les variétés avant séchage.

Mots : *Mangifera indica*, séchage, traitement et teneurs.

1. Introduction :

La mangue (*Mangifera indica*), fruit tropical bien connu dans le monde, est produite en quantité importante au Sénégal qui lui vaut une place de choix en Afrique Occidentale. La production de mangues au Sénégal est concentrée en Casamance (57%) plus particulière dans la région de Ziguinchor. Cependant, dans cette zone il y a de grosses pertes de mangues par pourrissement s'expliquant par un accès difficile aux sites de production et l'instabilité de la région d'une part et les productions se font concomitamment occasionnant la disponibilité de grandes quantités de mangues sur le marché et la mévente d'autre part [1]. Dans les pays du Sud, une proportion importante de fruits et légumes est actuellement perdue après la récolte, faute de technologies de conservation et de transformation adaptées

aux contextes locaux [2]. Les pertes post récoltes sont chiffrées à environ 80% dans le monde pour la mangue [3]. Temple (2001) estime ces pertes à environ 60% pour les mangues camerounaises, un taux relativement comparable aux pertes post récolte de mangues au Sénégal [5]. Pour faire face à cette situation, des technologies de transformation de pulpe en jus et nectars, ainsi que celles de fabrication de gelées et confitures ont été expérimentées [6–7]. La transformation devrait devenir une étape clé de la valorisation de la mangue dans les pays de la CEDEAO, où les pertes de récolte excèdent régulièrement le tiers de la production et les manques à gagner subséquentes sont notables. Cependant, le stockage des jus en milieu rural se heurte aux problèmes de réfrigération. Dans de telles conditions, des travaux [8–9] ont montré que le séchage de la mangue est une voie intéressante. La transformation a lieu dans des unités artisanales (groupements des femmes), semi-industrielles, et très peu d'unités industrielles. Les produits finis issus de la transformation de la mangue sont confrontés à un problème de qualité du fait que certaines unités ne maîtrisent pas ou ne transforment pas suivant les normes de qualité. Cela impacte négativement l'accès aux marchés de la mangue et des produits dérivés [10]. Des modifications chimiques sont observées au cours du séchage et peuvent impacter fortement sur la qualité nutritionnelle du produit transformé. Très peu d'études sur la qualité nutritionnelle ont été réalisées jusque-là. La couleur devient ainsi le principal facteur attractif et l'attribut majeur de sa qualité marchande selon les consommateurs [11]. Et même si la couleur est appréciée par les consommateurs, il est important de s'informer sur les quantités de certaines molécules actives et leurs comportements selon la technique de séchage et selon la variété transformée. Ainsi, l'objectif général poursuivi dans ce travail, est de réaliser l'étude de la variation en polyphénols totaux, en flavonoïdes et l'activité antioxydant de cinq variétés de mangues selon la technique de séchage et selon la variété séchée. Pour effectuer ce travail, nous avons employé trois techniques de séchage : la technique de séchage sans prétraitement (*sans déshydratation osmotique*) utilisée par les femmes de la Casamance, une technique avec prétraitement (*déshydratation osmotique*) en trempant les tranches de mangues dans une solution sucrée, puis chauffée pendant *deux heures* de temps et une technique (*sans déshydratation osmotique*) avec un trempage des tranches de mangues dans une solution sucrée puis chauffée pendant *trois heures* de temps suivant la méthode de Kameni *et al.*, (2003). Cette étude peut contribuer à comprendre la variation de ces teneurs en antioxydants selon les variétés séchées et selon la technique de séchage utilisée. Cette étude est réalisée sur cinq variétés de mangues exploitées au Sénégal (village de Kaguitt) dont deux sont destinées à l'export et les trois à la consommation locale d'une part et à la commercialisation nationale d'autre part. Le séchage a été effectué à Kandialan Diola (dans la commune de Ziguichor), région où cette activité est plus pratiquée.

Méthodes et matériel

1.1-Matériel

1.1.1-échantillons

Les échantillons de mangue sont récoltés dans un verger se trouvant au village de Kaguitte dans région de Ziguinchor département d'Oussouye, une localité très touchée par les pertes poste-récoles. Pour cela nous avons prélevé *quinze kilogrammes* à maturité commerciale et sans blessures de *chaque variété*. Les mangues ont été gardées au centre de séchage jusqu'à atteindre le niveau de maturité souhaité.



Photo 1 : Pourrissement de mangues en Casamance (village de Kaguitte 2019)

1.1.2-Le matériel de séchage

La technologie utilisée est un séchoir à gaz à convection naturelle avec quarante-deux claies. Les dimensions des Longueur (extérieur) : 6,96 m ; largeur (extérieur) : 2,438 m ; hauteur (extérieur) : 2,591 m. Il y a aussi du matériel qui accompagne le séchoir tels que : balance, bassines à plastiques, des couteaux pour éplucher, gants, cache-nez, blouses etc.

La durée de séchage est de douze heures.



Photo 2 : Séchoir à Kandialan Diola (dans la commune de Ziguinchor).

1.2-Méthode

1.2.1-Les étapes du séchage

Les mangues sont triées, lavées à l'eau potable, égouttées et pesées. Après le pelage et le dénoyautage, les mangues sont découpées en tranches. Les peaux, les noyaux et la pulpe sont pesés. Pour le séchage

sans prétraitement, les tranches sont placées directement sur les claies. Avec le prétraitement, les tranches sont introduites dans une solution sucrée de concentration égale à 350g/L et l'ensemble est chauffé pendant deux heures et/ou pendant trois heures. Après les tranches sont placées sur les claies tout en laissant de l'espace entre elles et séchage, les tranches sont mises en emballage dans des sachets en utilisant un aspirateur d'air.



Photo 3 : Tranches de mangues en traitement, tranches de mangues sur la claie et sachets de mangues séchées.

2.3.1-Dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes et de l'activité antioxydante.

➤ Dosage des polyphénols totaux :

Pour les polyphénols, on procède par la méthode de Folin-Ciocalteu qui consiste à oxyder les groupements oxydables des phénols en milieu basique. Les produits de réduction de couleur bleue ont une intensité d'absorption proportionnelle à la quantité de polyphénols présents. Les absorbances sont lues à 760 nm.

En réalité, il s'agit d'une méthode d'étalonnage à l'aide d'une solution d'acide gallique prise comme polyphénol de référence. A partir de cette solution étalon, on prépare des solutions filles de concentrations variant de 0,01 à 0,1g/l. On pourra ainsi tracer la courbe $DO = f(C)$, autrement dit la courbe d'étalonnage de réponse linéaire (affine). Ainsi, les résultats calculés à partir de la moyenne de trois essais sont exprimés en g d'équivalents acide gallique pour 100 g d'extrait.

Pour ce faire, 50 μ l d'extrait sont dosés à l'aide du réactif de Folin-Ciocalteu selon la méthode mise au point par (Georgé et al., 2005).

La concentration en polyphénols totaux est donnée par la relation :

$$C_p = \frac{(A - b)}{a} * Fd * \frac{v}{1000} * \frac{100}{m}$$

C_p : Teneur en polyphénols totaux exprimée en g équivalent acide gallique/100 g ;

A : Absorbance réelle de l'échantillon ;

a : Coefficient directeur de la droite d'étalonnage = 3,12 ;

b : Ordonnée à l'origine de la droite d'étalonnage = 0,0696 ;

Fd : Facteur de dilution ;

v : Volume de l'extraction (mL) ;

m : Prise d'essai (g).

➤ **Dosage des flavonoïdes :**

La teneur en flavonoïdes des extraits est déterminée en utilisant la méthode colorimétrique décrite par (6). Les résultats sont exprimés en g équivalent catéchine pour 100 g de produit.

$$C = \frac{A * Pm}{\varepsilon} * fd * \frac{v}{1000} * \frac{100}{m}$$

C : Teneur en flavonoïdes totaux exprimée en g équivalent catéchine/100 g ;

A : Absorbance de l'échantillon ;

Pm : Masse molaire de la catéchine = 290,26 g/mol ;

ε : Coefficient d'extinction molaire = 10 332 L/mol. cm ;

Fd : Facteur de dilution ;

v : Volume de l'extraction (mL) ;

m : Prise d'essai (g).

- L'activité antioxydante a été évaluée avec le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) suivant la méthode de (Adaramola *et al.*, 2016). Par ailleurs, quelques ajustements ont été apportés à ce protocole. La méthode est basée sur la capacité d'un extrait de donner un électron singulet au radical libre DPPH de coloration violette foncée pour le stabiliser en DPPH de coloration jaune-verte. Cette activité est comparée à celle d'un antioxydant témoin (quercétine). Ainsi, 2 mL de DPPH (0,1 mM dans de l'alcool) ont été introduits dans un tube à essais contenant 0,5 mL d'échantillon. Le mélange a été agité pendant cinq (5) minutes, puis incubé à l'obscurité et à la température ambiante pendant 30 minutes. Après cette période d'incubation, l'absorbance a été lue à 517 nm contre un blanc (0,5 mL d'échantillon et 2 mL de méthanol) à l'aide d'un spectrophotomètre UV (SPECORD 200 PLUS). L'activité antiradicalaire est exprimée en pourcentage de DPPH réduit suivant l'équation...

$$AAR (\%) = \frac{Absorbance_{contrôle} - Absorbance_{échantillon}}{Absorbance_{contrôle}}$$

Aussi, la concentration d'huile de baobab réduisant 50 % de DPPH (IC₅₀) est déterminée graphiquement sur la courbe de l'activité antiradicalaire (AAR) en fonction de la concentration d'huile.

3. Résultats et discussions.

3.1-Evaluation des masses des variétés séchées :

La mangue comprend principalement trois parties : l'exocarpe, le mésocarpe et le noyau. Plus ou moins aplatie latéralement, la mangue a un poids variable (100 à 1200g) selon les variétés [15]. Dans ce tableau, nous avons représenté les masses d'épiderme, des noyaux et de l'amande pour cinq kilogrammes de chaque variété.

Tableau 1 : Les différentes masses :

Variétés	Masse brute (kg)	Masse d'épidermes (kg)	Masse des noyaux (kg)	Masse des tranches (kg)
Bk	5	0,9±0,50	1,5±0,80	2,6±0,55
SL	5	0,89±0,40	1,9±0,50	2,2±0,32
Knt	5	1±0,45	1±0,67	3±0,50
Kt	5	1,2±0,72	1,3±0,80	3±0,57
Dr	5	0,9±0,65	1,4±0,75	2,7±0,67

Les résultats représentés dans ce tableau 1 montrent que la variété *kt* (*keitt*) a la masse d'épidermes la plus importante soit 24% de sa masse totale suivie de la variété *knt* (*kent*) 20% de sa masse totale. Les trois variétés locales ont les masses d'épidermes les plus faibles soit 18% de leur masse totale. Les variétés ont respectivement, les masses de noyaux les plus importantes : *Sl* (*Sierra-léon*) 38% de sa masse, *Bk* (*Boukodiékhal*) 30% et *Dr* (*Diourrou*) 28% et les variétés améliorées ont les masses de noyaux les plus faibles (*knt* 20% et *kt* 26%). Au lieu d'être jetées, ces parties pourraient avoir des propriétés intéressantes pour l'**industrie alimentaire**. La **pelure** de la mangue est reconnue comme une source de pectine de haute qualité. Les rendements de pulpes les plus importants apparaissent sur les variétés *knt* et *kt* (60% de leur masse totale). La variété locale *Sl* présente le rendement de pulpes le plus faibles. Comparées aux variétés étudiées par (Passannet et *al.*, 2018), les variétés *kt*, *knt* et *Dr* présentent rendements de pulpes plus incessants.

3.2- Variables d'études

- **Teneurs** :
 - *Polyphenol* (g/100g)
 - *Flavonoïde* (g/100g)
 - *Pouvoir antioxydant* (%)
- **Variétés étudiées** : *Kent* (*Knt*), *Diourrou* (*Dr*), *Keitt* (*Kt*) *Boukodiékhal* (*BK*) et *Sierra-léon* (*SL*).

3.2.1-Analyses descriptives

Pour comprendre s'il existe une variation de l'activité antioxydante, des teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes selon la technique de séchage utilisée et/ou selon la variété séchée, des analyses descriptives sont réalisées dans un premier temps. Les résultats de ces analyses sont représentés dans la figure suivante.

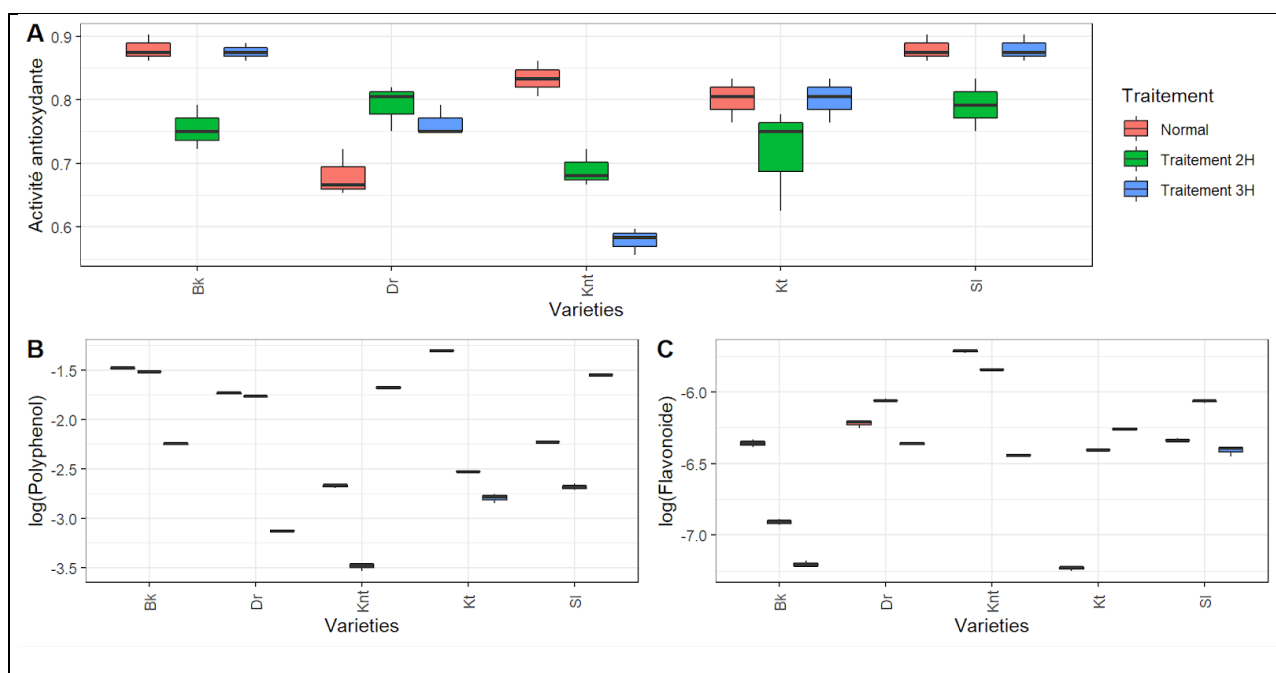


Figure 1 : Description de la variation des teneurs antioxydantes suivant le traitement et la variété :

D'après ces analyses descriptives, il semble qu'il y a une variation des teneurs antioxydantes selon la technique de traitement utilisée et selon la variété.

Pour confirmer ou infirmer cette hypothèse, on a réalisé le test de Kruskal Wallis dans le tableau ci-dessous.

Tableau 2: Test de Kruskal Wallis

	statistic	p.value	parameter	method	Test
1	17.5521517140773	0.00150925716165766	4	Kruskal-Wallis rank sum test	Antioxydant_activity ~ Varieties
2	6.53673717481156	0.0380684818436683	2	Kruskal-Wallis rank sum test	Antioxydant_activity ~ Traitement
3	8.59155775215081	0.0721600427121285	4	Kruskal-Wallis rank sum test	Polyphenol ~ Varieties
4	6.31009774848986	0.0426363171239236	2	Kruskal-Wallis rank sum test	Polyphenol ~ Traitement
5	17.1760107165602	0.00178650785641088	4	Kruskal-Wallis rank sum test	Flavonoïde ~ Varieties
6	5.59341195072138	0.0610107027451508	2	Kruskal-Wallis rank sum test	Flavonoïde ~ Traitement

D'après résultats de ce test, l'*activité antioxydante* varie significativement suivant la variété et le traitement considérés. Elle est donc fonction de la variété et du traitement. Le traitement subi par les échantillons affecte significativement leurs teneurs en *polyphénols* contrairement aux variations suivant les variétés ($p = 0,072$). Si l'on considère les *teneurs en flavonoïdes*, le traitement subi par les échantillons ne fait pas varier leurs teneurs tandis que les échantillons provenant de variétés différentes ont des *teneurs en flavonoïdes* variant significativement.

Pour exploiter explicitement ces observations, nous allons réaliser des analyses pour chaque teneur en fonction du traitement et de la variété.

3.3-Variation du pouvoir antioxydant :

La capacité antioxydante peut également être évaluée comme le potentiel à piéger des radicaux libres, en mesurant directement l'inhibition du radical lors de l'ajout du composé antioxydant [17]. La capacité antioxydante est le principal rôle physiologique attribué aux polyphénols. Halliwell et Gutteridge (1995) définissent un antioxydant comme « une substance qui, présente à faibles concentrations par rapport à celle d'un substrat oxydable, retarde ou inhibe significativement son oxydation ».

Dans la figure ci-après, nous avons représenté les résultats la variation moyenne de l'activité antioxydante selon la technique de séchage utilisée et selon la variété séchée.

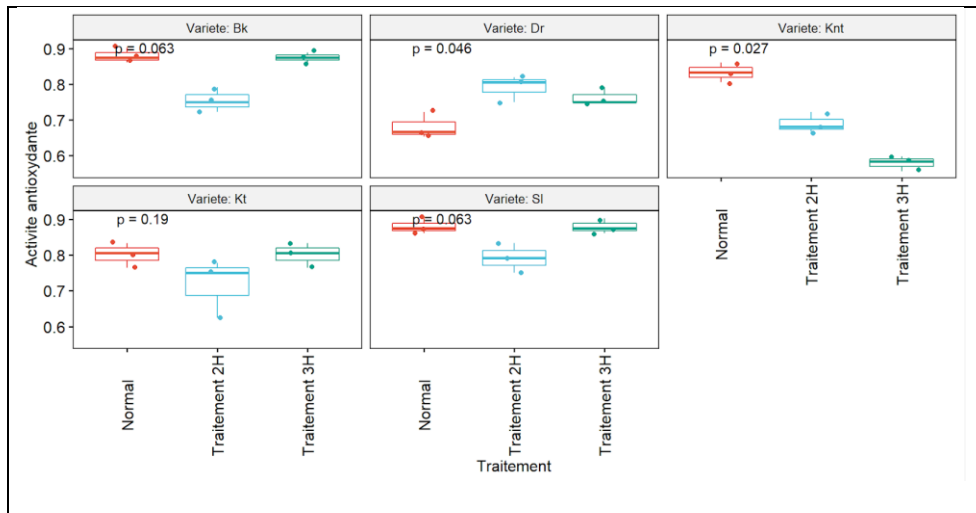


Figure 1 : Variation moyenne de l'activité antioxydante selon le traitement par variété :

L'analyse de ce graphe révèle que pour les variétés *Bk*, *Knt*, *Kt* et *Sl*, le traitement subi par les échantillons diminue considérablement (par endroit significativement ex de *Knt*) leur *Activité antioxydante*. C'est seulement pour la variété *Dr* où les traitements augmenteraient de façon significative l'activité antioxydante des échantillons. Il semble que l'activité antioxydante varie en fonction du traitement et de la variété séchée. Pour répondre à cette supposition, on a réalisé une analyse de variance dans la figure suivante.

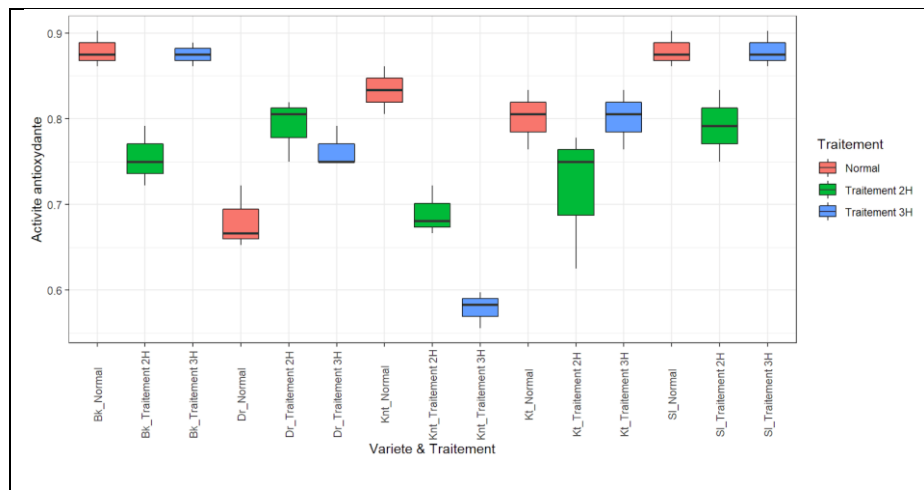


Figure 2: Analyses de variance du pouvoir antioxydant :

Les résultats de cette analyse de variance montrent que l'activité antioxydante varie en fonction de la variété séchée et du traitement utilisé. La variation de cette activité selon le traitement, est bien visible en prenant comme exemple la variété *Knt* où pour le *traitement normal* ($AAR=0,83\%$), le *traitement-2h* ($AAR=0,69\%$) et *traitement-3h* ($AAR=0,59\%$). Il faut noter aussi que seule dans la variété *Dr* que le *traitement-2h* fait augmenter l'activité antioxydante et avec les quatre autres c'est l'inverse qui est noté

alors que pour un traitement-3h on note des valeurs comparables au traitement-normal. Selon les variétés, on observe que *Bk* et *Sl* présentent les meilleures activités antioxydantes (AAR=0,88%).

3.3-Variation de la teneur en polyphénols totaux :

Les polyphénols sont des composés à fort potentiel santé chez l’homme, notamment grâce à leur capacité antioxydante. La **mangue**, de même que la goyave et le litchi, se démarquent grandement des autres fruits tropicaux par son contenu élevé en **polyphénols** (ou composés phénoliques) [19]. Les composés phénoliques comportent tous un cycle benzénique substitué par un (des) groupement(s) hydroxyle(s). Le composé phénolique « radicalaire » résultant est stabilisé par la délocalisation des électrons sur le cycle benzénique. Cette réaction entraîne donc la conversion d’un radical peroxyde très réactif en un radical phenoxyde moins réactif. Cette **capacité antioxydante** (capture des espèces réactives de l’oxygène) est encore accrue pour les composés phénoliques possédant deux groupes hydroxyles en ortho. Ces derniers sont donc également plus sensibles à l’oxydation [20].

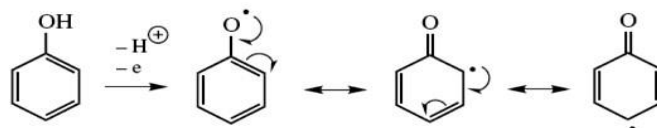


Figure 3 : oxydation mono-électronique d’un phénol.

Dans cette figure ci-après, on a représenté les résultats de la variation moyenne des teneurs en polyphénols totaux selon la variété et le traitement utilisée.

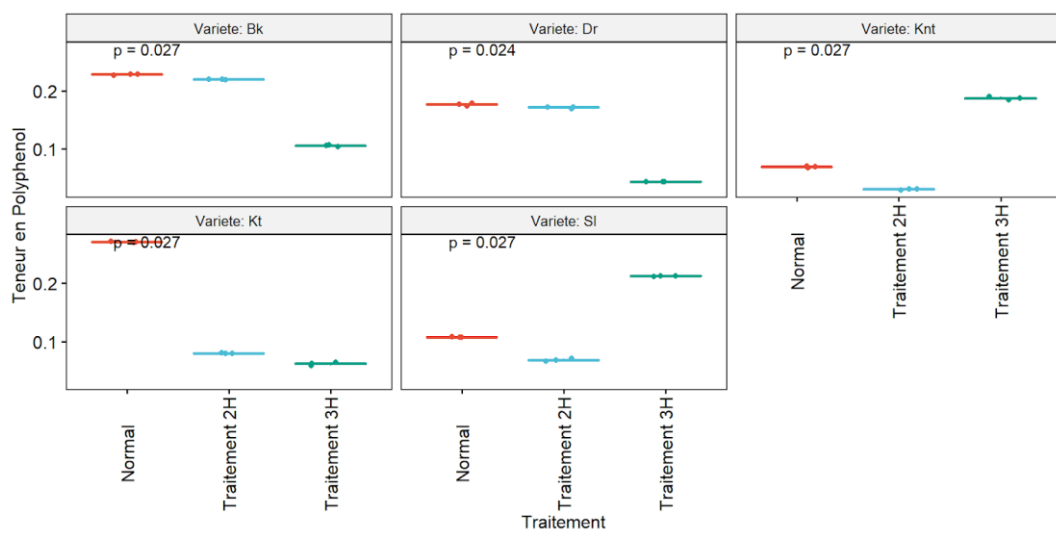


Figure 4 : Variation moyenne des teneurs en polyphénols totaux selon le traitement par variété.

Pour les variétés *Bk*, *Dr* et *Kt*, le traitement subi par les échantillons diminue significativement leurs *Teneurs en Polyphénols*. Contrairement aux variétés *Knt* et *Sl* où les traitements de 3H augmenteraient de façon significative les *Teneurs en Polyphénols* des échantillons. D’après ces résultats on observe une variation des teneurs en polyphénols selon la technique utilisée. Il semble aussi, que les teneurs en

polyphénols varient selon les variétés séchées. Pour confirmer ou infirmer cette hypothèse, nous avons réalisé des analyses de variance dans la figure ci-après. Etant donné que l'analyse dans la figure 3 permet d'observer la variation des teneurs en polyphénols selon le traitement, l'analyse de variance permet d'observer cette variation selon la variété et le traitement si elle existe.

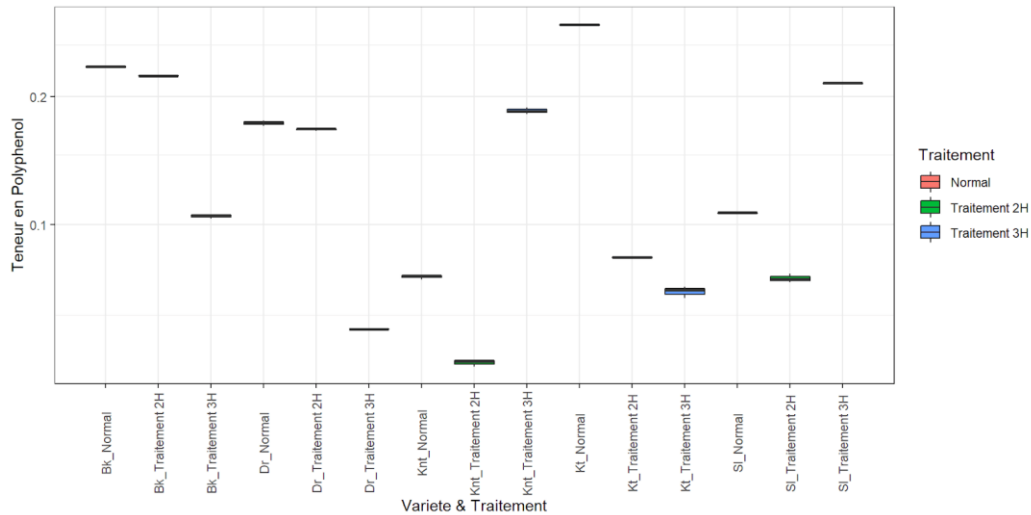


Figure 5 : Analyse de variance de la variation des teneurs en polyphénols totaux

Les résultats de cette analyse de variance confirment la variation de teneurs en polyphénols selon le traitement utilisé. Cette variation selon le traitement utilisé, est beaucoup plus manifeste avec les variétés : *Knt* (Normal-0,07g/100g, traitement-2H-0,03g/100g et traitement-3H-0,19g/100g) *Kt* (Normal-0,27g/100g, traitement-2H-0,07g/100g et traitement-3H-0,06g/100g) et *Sl* (Normal-0,11g/100g, traitement-2H-0,07g/100g et traitement-3H-0,21g/100g). Ces résultats sont en accord avec ceux du **Test de Kruskal Wallis** dans le tableau 1. Cependant, pour obtenir des teneurs en polyphénols importantes, il est nécessaire de traiter certaines variétés et d'autres non. Les teneurs les plus importantes sont observées respectivement aux variétés : *Kt* (Normal-0,27g/100g), *Sl* (traitement-3H-0,21g/100g) et *Knt* (traitement-3H-0,19g/100g). Ces trois variétés ont des teneurs en polyphénols plus importantes que celles étudiées par (Schieber et al., 2008) (concentration 5, 72%). En comparant les teneurs en polyphénols entre ces variétés, il semble qu'il n'y pas de variations significatives. Pour savoir s'il y a des variations de teneurs en polyphénols sont significatives entre variétés séchées, nous avons réalisé un modèle linéaire. Ce modèle consiste à fixer le *Statut Normal* de la variété *Kt* puis on la compare avec tous les autres statuts. Pour ce faire nous avons fixé le *Statut Normal* de la variété *Kt* comme référence afin de modéliser cette hypothèse à l'aide d'un *GLM* (Modèle linéaire Généralisé) avec une distribution *Binomiale Négative* qui est généralement la mieux adaptée pour des données décimales.

Ainsi les résultats de ce modèle sont rapportés dans le tableau c-dessous.

Tableau 3 : Modèle linéaire Général

	Estimate ↕	Std. Error ↕	t value ↕	Pr(> t) ↕
(Intercept)	0.271163929722434	0.000916883132164157	295.74535751617	1.53772090768122e-53
Var_TraitBk_Normal	-0.0432880655047124	0.00129666856061767	-33.3840634526467	2.77185583153845e-25
Var_TraitBk_Traitement 2H	-0.0515947583547162	0.00129666856061767	-39.7902439541982	1.60257873049283e-27
Var_TraitBk_Traitement 3H	-0.165650314814456	0.00129666856061767	-127.750698864441	1.30044279694663e-42
Var_TraitDr_Normal	-0.0947585419045677	0.00129666856061767	-73.0784602808824	2.33102035308028e-35
Var_TraitDr_Traitement 2H	-0.100155491940834	0.00129666856061767	-77.2406264659677	4.46223176923494e-36
Var_TraitDr_Traitement 3H	-0.227522689469192	0.00129666856061767	-175.467113477951	9.65076321928891e-47
Var_TraitKnt_Normal	-0.202109703578171	0.00129666856061767	-155.86843833238	3.35773410090152e-45
Var_TraitKnt_Traitement 2H	-0.240564571238518	0.00129666856061767	-185.525105292847	1.81552017768511e-47
Var_TraitKnt_Traitement 3H	-0.0841574641771561	0.00129666856061767	-64.9028338722637	8.01464000364333e-34
Var_TraitKt_Traitement 2H	-0.191264969204063	0.00129666856061767	-147.504902187922	1.75263160074666e-44
Var_TraitKt_Traitement 3H	-0.209975273265338	0.00129666856061767	-161.934421518877	1.06951976234962e-45
Var_TraitSl_Normal	-0.163535249950469	0.00129666856061767	-126.119545824854	1.91080512577693e-42
Var_TraitSl_Traitement 2H	-0.202930829983875	0.00129666856061767	-156.501696846269	2.97360422863083e-45
Var_TraitSl_Traitement 3H	-0.0589477158491039	0.00129666856061767	-45.4608969781946	3.13681773882054e-29

D'après les résultats de ce modèle, on observe que toutes les valeurs sont négatives donc les teneurs en polyphénols totaux varient en fonction du traitement utilisé et de la variété. Cependant ces variations des teneurs en polyphénols sont plus marquées par rapport aux traitements qu'aux variétés.

3.3-Variation de la teneur en flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont des composés phénoliques de faible poids moléculaire possédant un squelette carboné en C₆-C₃-C₆ (noyau flavane). Les deux cycles aromatiques définissent les noyaux A et B et l'hétérocycle central (pyrane) est nommé C (Figure 6) [22]. Il existe différentes sous-classes de

flavonoïdes selon le degré d'oxydation de cet hétérocycle. Plusieurs travaux ont montré le rôle des flavonoïdes dans la désactivation des radicaux libres [23–24].

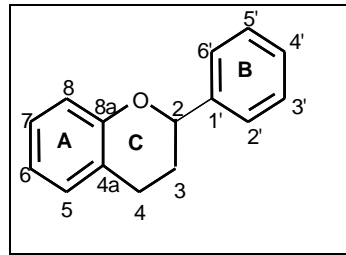


Figure 6: Structure générique des flavonoïdes.

Les flavonoïdes agissent principalement comme antioxydants primaires, en stabilisant les radicaux peroxydes mais ils peuvent aussi désactiver les espèces oxygénées réactives (ion superoxyde, radical OH[•], oxygène singulet), inhiber la lipoxigénase ou encore chélater les métaux [25]. Dans la figure ci-après, nous avons les résultats de l'analyse de la variation des teneurs en flavonoïdes.

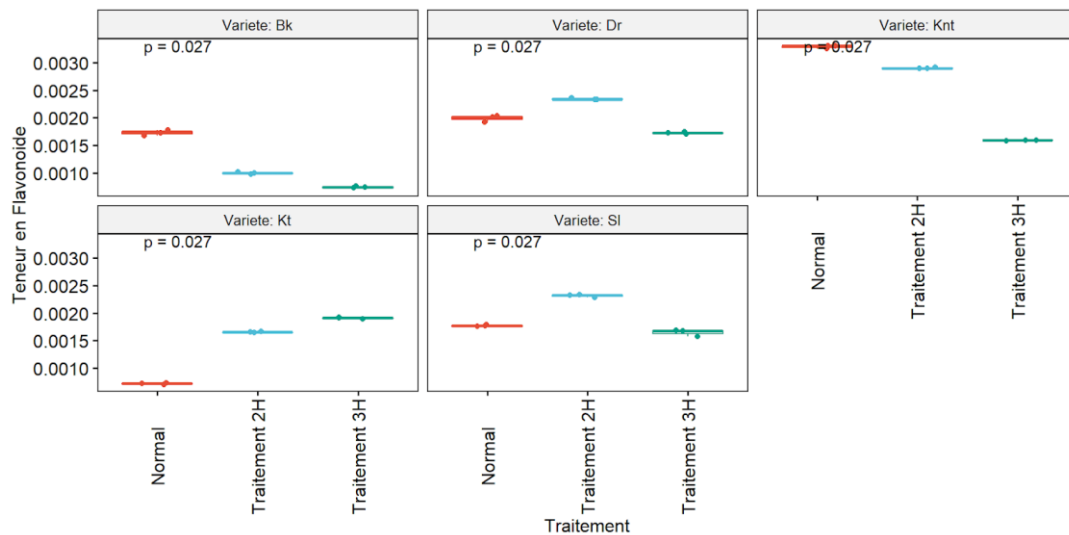


Figure 5: Variation des teneurs en flavonoïdes selon le traitement par variété.

Pour les variétés *Bk* et *Knt* le traitement subi par les échantillons diminue significativement leurs *Teneurs en Flavonoïdes*. Contrairement aux variétés *Dr*, *Kt* et *Sl* où les traitements de 2h et/ou 3h augmenteraient de façon significative les Teneurs en flavonoïde des échantillons. D'après ces résultats, on observe une variation des teneurs en flavonoïdes. Il semble aussi que cette variation est en fonction de la variété séchée.

Pour confirmer ou infirmer cette hypothèse, nous avons réalisé une analyse de variance des teneurs en flavonoïdes et les résultats sont rapportés dans le tableau ci-après.

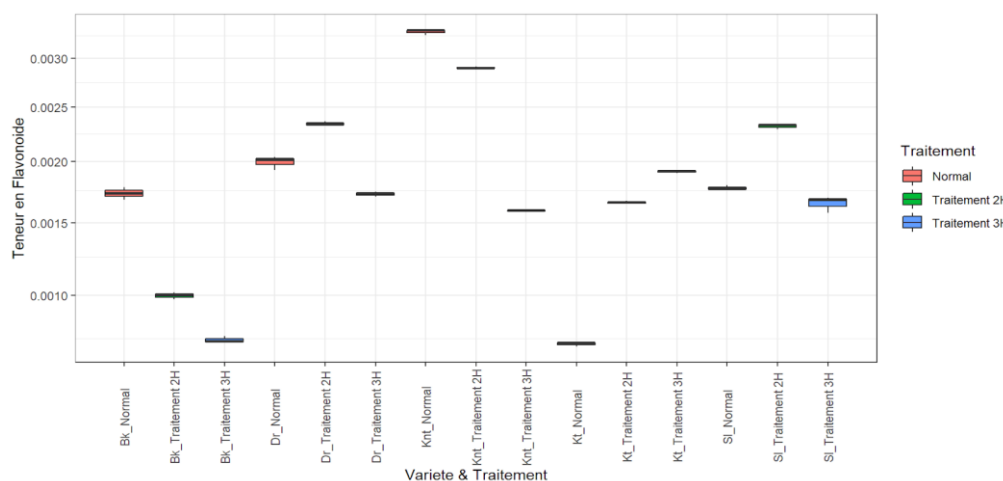


Figure 4 : Analyse de variance des teneurs en flavonoïdes.

D'après les résultats de cette analyse, on observe une variation très significative des teneurs en flavonoïdes selon la technique utilisée. Si on prend comme exemple les variétés : *knt* (normal-0,0033g/100g et traitement-3h-0,0016g/100g), *Bk* (normal-0,0017g/100g et traitement-3h-0,0005g/100g). Cette analyse de variance confirme que les teneurs des flavonoïdes selon le traitement utilisé. En observant le graphique, il semble qu'il y a une variation des teneurs en flavonoïdes selon la variété séchée. Pour répondre à cette hypothèse, nous avons réalisé un modèle linéaire généralisé.

Dans ce modèle linéaire généralisé, nous avons fixé comme référence *Knt-Normal*. Les résultats de ce modèle sont rapportés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 4 : Modèle linéaire Généralisé

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)
(Intercept)	0.0032929160	1.790605e-05	183.89961	2.363522e-47
Var TraitBk_Normal	-0.0015627064	2.532298e-05	-61.71100	3.599008e-33
Var TraitBk_Traitement 2H	-0.0022941328	2.532298e-05	-90.59489	3.805771e-38
Var TraitDr_Normal	-0.0013003009	2.532298e-05	-51.34865	8.497852e-31
Var TraitDr_Traitement 2H	-0.0009479371	2.532298e-05	-37.43387	9.659508e-27
Var TraitDr_Traitement 3H	-0.0015671041	2.532298e-05	-61.88466	3.310134e-33
Var TraitKnt_Traitement 2H	-0.0003870155	2.532298e-05	-15.28317	1.065414e-15
Var TraitKnt_Traitement 3H	-0.0016999157	2.532298e-05	-67.12936	2.933120e-34
Var TraitKt_Normal	-0.0025704302	2.532298e-05	-101.50583	1.269119e-39
Var TraitKt_Traitement 2H	-0.0016353630	2.532298e-05	-64.58019	9.297515e-34
Var TraitKt_Traitement 3H	-0.0013795406	2.532298e-05	-54.47781	1.467295e-31
VarTraitSl_Normal	-0.0015186885	2.532298e-05	-59.97274	8.424495e-33
Var TraitSl_Traitement 2H	-0.0009722935	2.532298e-05	-38.39569	4.581076e-27
Var TraitSl_Traitement 3H	-0.0016430183	2.532298e-05	-64.88250	8.089825e-34

Les résultats de ce modèle montrent que toutes les valeurs sont négatives donc ils confirment qu'il y a une variation des teneurs en flavonoïdes selon le traitement et la variété séchée. Les analyses (*Variance et modèle linéaire*) montrent que les variétés *Knt* (Traitement-2h-0,0087g/100g et traitement-normal-0,0033g/100g), *Dr* (Traitement-2h-0,0023g/100g et Traitement-normal-0,0019g/100g) et *Sl* (Traitement-2h-0,0023g/100g et Traitement-normal-0,0017g/100g), présentent respectivement de teneurs en flavonoïdes importantes. Le traitement de deux heures de ces trois variétés augmente considérablement les teneurs en flavonoïdes. La teneur en flavonoïdes de la variété *Knt* est plus élevée que celles variétés Tommy Atkins, Kent, Keitt et Haden (31,2 +/- 7,8 mg GAE / 100 g) [26] alors les teneurs des variétés *Dr* et *Sl* se trouvent dans cet intervalle. La variation des teneurs en flavonoïdes est plus importante entre variétés. Ces variations des teneurs en antioxydants sont observées sur les mêmes variétés à l'état frais [27].

Conclusion :

Beaucoup d'études ont montré l'importance de la consommation des aliments riches en antioxydants dans la santé humaine. Cependant les teneurs en antioxydants peuvent varier selon beaucoup de facteurs. Si des nos études précédentes, nous avons bien noté une variation des teneurs en antioxydants entre les cinq variétés étudiées, c'est toujours le même constat qui est observé lors du séchage. Dans cette étude, selon la technique de séchage utilisée, on observe une variation significative des teneurs antioxydantes. Ainsi pour certaines variétés, la déshydratation osmotique peut contribuer à l'augmentation ou à la baisse des teneurs en antioxydants lors du séchage. Ainsi la technique de séchage sans traitement (sans déshydratation osmique) utilisée par les femmes de la Casamance conservent bien les composés antioxydants et elle plus facile à pratiquer. Les variétés locales *Dr*, *Sl* et *Bk* qui sont peu utilisées dans le séchage, relèvent dans teneurs intéressantes en antioxydants et elles pourraient donc être comptées dans la transformation, d'ailleurs elles sont les plus touchées par le pourrissement. La variété *knt*, très prisée par les transformateurs, révèle des teneurs importantes comparée à des variétés séchées. Il est donc important de comprendre comment certains composés phénoliques baissent pour une variété et augmentent dans une autre, sachant que la même technique de séchage est utilisée ? C'est aussi une nécessité d'utiliser ces produits issus du séchage pour certaines application comment dans les traitements cliniques entre autres.

Bibliographie

- [1]. *Rapport-filière-mangue-afrique-occ-24 octobre 2012-original*.
- [2]. Reynes M, Ducamp MN. 2008. La valorisation des fruits tropicaux: Conservation et transformation des fruits à petite échelle. CIRAD. <http://www.cirad.fr/content/download/25>.
- [3]. Kansci G, Koubala BB, Mbome LI. 2003. Effect of ripening on the composition and suitability for jam processing of different varieties of mango (*Mangifera indica*).

African Journal of Biotechnology, 2(9): 301-30.

[4]. Temple L. 2001. Quantification des productions et des échanges de fruits et légumes au Cameroun, Cahier d'Agriculture, 119(10): 87-94.

[5]. Mbodj M. 2005. Le développement durable et la lutte contre la pauvreté: cas du Sénégal, la filière mangue d'exportation. Rapport final. Atelier ASPRODEB/SOM, p. 65.

[6]. Hulme A.C., The mango, in: Hulme A.C (Ed.), The biochemistry of fruits and their products, Vol. 2, Acad. Press, London, UK, 1971, pp. 233–254.

[7]. Besuchet E., Pury de P., Guide pour la préparation des fruits tropicaux, Féd. Int. Croix Bleue, FICB, Lindenrain, 1998.

[8]. Uzuegbu J.O., Ukeka C., Osmotic dehydration as a method of food preserving fruits to minimize ascorbic acid loss, J. Food Agr. 1 (1987) 187–188.

[9]. Sagar V.R., Khurdiya D.S., Effect of ripening stages on the quality of dehydrated ripe mango slices, J. Food Sci. Technol. (India) 33 (1996) 527–529.

[10]. ITC Limited - Report and Accounts 2012. itc-annual-report-2012/pdf/report-accounts-2012.

[11]. Baudelaire E. & Njantou D., 2006. Optimisation du broyage des mangues séchées (*Manguifera indica* var Kent): influence sur les propriétés physicochimiques et fonctionnelles des poudres obtenues. Vandoeuvre-les-Nancy, INPL.

[12]. Kameni, A., Mbofung, C.M., Ngnamtam, Z., Doassem, J., Hamadou, L., Aptitude au séchage des fruits de quelques variétés de manguiers cultivées au Cameroun, Fruits 58 (2003) 89–98.

[13]. Georgé et al., 2005. [Journal of Agricultural and Food Chemistry](#) 53 (5): 1370-3 .

[14]. Adaramola et al / Chemistry International 2(3) (2016) 168-175 iscientic.org. 168. www.bosaljournals/chemint/ editorci@ ...

[15]. Soumah BB., 1988. Projet de transformation et de conditionnement des mangues à BoundiaI en Côte d'Ivoire. SIARC (Section des Ingénieurs Alimentaire / région chaude). Montpellier. 80 .

[16]. Passannet et al., J. Appl. Biosci. 2018 Variabilité des caractéristiques physiques des mangues cultivées au Tchad : caractérisation de la diversité fonctionnelle 128: 12932 -12942.

[17]. Kim, J.-S., Kwon, Y.-S., Chun, W.-J., Kim, T.-Y., Sun, J., Yu, C.-Y., & Kim, M. -J. (2010). *Les extraits de flavonoïdes de Rhus verniciflua Stokes ont un effet inhibiteur antioxydant, antimicrobien et α -glucosidase. Chimie alimentaire, 120 (2), 539–543.*

[18]. Halliwell, B., Aeschbach, R., Löliger, J., et Aruoma, OI (1995). *La caractérisation des antioxydants. Toxicologie alimentaire et chimique, 33 (7), 601–617*

- [19]. Berardini N, Fezer R, *et al.* [Screening of mango \(*Mangifera indica* L.\) cultivars for their contents of flavonol O- and xanthone C-glycosides, anthocyanins, and pectin.](#)
- [20]. COOK, N. (1996). Flavonoïdes - Chimie, métabolisme, effets cardioprotecteurs et sources alimentaires. *Journal de la Société européenne de la céramique*, 66–76. doi: 10.1016 / s0955-2863 (95) 00168-9.
- [21]. Dangles O., 2003. Propriétés chimiques des polyphénols. Dans *Les polyphénols en agroalimentaire*; Sarni-Manchado P. et Cheynier V., Eds.; Lavoisier: Paris; 29-54.
- [22]. Ribeiro, SMR, Barbosa, LCA, Queiroz, JH, Knödler, M. et Schieber, A. (2008). *Composés phénoliques et capacité antioxydante des variétés de mangue brésilienne (*Mangifera indica* L.)*. *Chimie alimentaire*, 110 (3), 620–626.
- [23]. Cook, NC et Samman, S. (1996) Flavonoids-Chemistry, Metabolism, Cardioprotective Effects, and Dietary Sources. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 7, 66-76.
- [24]. AFNOR, 2000. Microbiologie des aliments. Méthode de dénombrement de *Listeria monocytogenes*. NF-V08-062.
- [25]. AFNOR, 2002c. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement des *Escherichia coli* bêta-glucuronidase positive par comptage des colonies à 44 °C au moyen du 5 bromo 4-chloro-3-indolyl bêta-D-glucuronide. NF-V08-053.
- [26]. Manthey, JA, et Perkins-Veazie, P. (2009). Influences de la date et du lieu de récolte sur les niveaux de β -carotène, d'acide ascorbique, de phénols totaux, de la capacité antioxydante in vitro et des profils phénoliques de cinq variétés commerciales de mangue (*Mangifera indica*L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 (22), 10825–10830.
- [27]. Ba, I. , Fofana, M. , Diouf, M. and Diop, M. (2019) Study of the Biochemical Composition of Senegalese Mango Varieties Intended for Export and Local Consumption. *Journal of Biosciences and Medicines*, 7, 110-120.

C27

La chenille *Imbrasia obscura* (Butler, 1878) (Lepidoptera : Saturniidae) consommée dans la région de la Kara au Togo

BADANARO Fègbawè*

Laboratoire de Biochimie Appliquée à la Nutrition et à l'Alimentation, Faculté des Sciences, Université de Lomé, BP : 1515, Togo,

*Email : fbadanar@yahoo.fr

GT 3 : ReSAOA

Résumé :

Les larves de Lépidoptères sont consommées par les populations indigènes au Togo sans qu'aucune étude ne soit menée sur leur valeur nutritionnelle. L'objectif de cette étude est d'évaluer la valeur nutritive de *Imbrasia obscura* (Butler, 1878) consommée par les populations de la Région de la Kara au Togo. A cet effet, des échantillons de *I. obscura* ont été récoltés dans trois localités de cette région. Les teneurs en cendres, protéines, vitamines et lipides ont été déterminés selon les méthodes AOAC et en fibres par AFNOR. Les minéraux ont été analysés par spectrophotométrie. La composition en acides gras est déterminée par chromatographie. Cette chenille est constituée de 10,41% d'eau, 53,36% de protéines, 14,22% de lipides, 12,22% de fibres et 1,04% de glucides. Ses lipides contiennent des acides gras mono-insaturés (acide oléique (30,57%) et élaïdique (0,46%)) et polyinsaturés (acides linoléique (4,82%), α -linoléique (1,872%), γ -linoléique (1,57%) et arachidonique (2,33%)). En ce qui concerne la composition en micronutriments, la teneur moyenne en minéraux est de 10,3% et dépendent de la nature de ces derniers. Pour les vitamines, *I. obscura* jouit également des taux variables. La quantité et la qualité des nutriments de cette chenille contribuent énormément à l'équilibre nutritionnel des consommateurs.

Mots-clés : *Imbrasia obscura* ; valeur nutritive ; Togo.

The caterpillar *Imbrasia obscura* (Butler, 1878) (Lepidoptera: Saturniidae) consumed in the Kara region of Togo

Abstract:

Lepidoptera larvae are consumed by indigenous populations in Togo without any study being conducted on their nutritional value. The objective of this study is to assess the nutritional value of *Imbrasia obscura* (Butler, 1878) consumed by the populations of the Kara Region of Togo. For this purpose, samples of *I. obscura* were collected in three localities of this region. The contents of ash, protein, vitamins and lipids were determined according to the AOAC and fiber methods by AFNOR. Minerals

were analyzed by spectrophotometry. Finally, the fatty acid composition was determined by chromatography. This caterpillar is made of 10.41% water, 53.36% proteins, 14.22% lipids, 12.22% fiber and 1.04% carbohydrate. Its lipids contain monounsaturated fatty acids (oleic (30.57%) and elaidic acid (0.46%)) and polyunsaturated fatty acids (linoleic (4.82%), α -linolenic (1.872%), γ -linolenic (1.57%) and arachidonic acid (2.33%)). Regarding the composition of micronutrients, the average mineral content is 10.3% and depends on the nature of the latter. For vitamins, *I. obscura* also enjoys variable rates. The quantity and quality of the nutrients of this caterpillar contribute enormously to the nutritional balance of consumers.

Keywords: *Imbrasia obscura*; nutritional value; Togo.

1. Introduction

Les forêts et les arbres hors forêts dont l'accès aux ressources est libre, attirent les populations pauvres [1, 2]. Selon la FAO [3], 60 millions de peuples indigènes dépendent presque entièrement des forêts et plus de 1,6 milliard de personnes dépendent à divers degrés des forêts pour vivre dans le monde. La dépendance des ménages aux ressources forestières peut être de manière directe à travers la récolte des produits alimentaires et médicinaux, de matériaux utilisés pour l'artisanat et pour des cérémonies culturelles mais aussi de bois de feu ou bois d'œuvre [4]. Elle peut également l'être de manière indirecte à travers la commercialisation de ces produits afin d'obtenir des moyens financiers de subsistance voire d'épanouissement social [5]. Dans les pays en développement, la dépendance des ménages aux ressources forestières s'est accrue à cause de la pauvreté et de l'insécurité alimentaire [6]. Par ailleurs, les perspectives d'évolution de la population mondiale annoncent un accroissement continu au cours des prochaines décennies surtout dans les pays en développement où se produira la presque totalité de cette augmentation [7]. La valorisation des produits tirés des forêts, exploités depuis des temps immémoriaux, est donc indispensable pour la survie de ces populations dont le nombre ne cesse de croître. Plusieurs travaux ont été réalisés dans ce sens [8, 9, 10, 11]. Selon ces travaux, les forêts renferment d'intéressantes potentialités en matière de produits forestiers non ligneux (PFNL) pour assurer la sécurité alimentaire et économique des populations dépendantes. Les insectes en particulier sont envisagés comme pouvant être un aliment alternatif ou complémentaire à la viande conventionnelle afin d'atténuer aussi l'impact de l'élevage conventionnel sur l'environnement [12, 13]. Cependant, jusqu'alors beaucoup d'espèces d'insectes sont consommées sans que leur valeur nutritive ne soit connue. Or, cette connaissance est nécessaire pour la valorisation des insectes comestibles en vue d'une amélioration des conditions d'existence des populations dépendantes. Au Togo, très peu de travaux ont été consacrés à la valeur nutritive de cette faune. Les larves de *Imbrasia obscura* (Butler, 1878) (Lepidoptera: Saturniidae) sont consommées et très appréciées par différentes communautés ethniques (Kabyè et Nawdba) de la région de la Kara au Togo sans qu'aucune étude ne soit menée sur leur valeur

nutritionnelle. Ce qui se justifie par une faible connaissance de ces dernières sur le plan scientifique. L'objectif général de ce travail est d'évaluer les potentialités nutritionnelles de la larve de *I. obscura* consommée par les populations de la région de la Kara au Togo pour une meilleure valorisation de cette chenille.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel biologique étudié et méthode de récolte

Le matériel biologique qui a fait l'objet de cette étude est la chenille *I. obscura*. Elle est consommée par les groupes ethniques Kabyè et Nawdba de la région de la Kara au Togo. Elle est connue sous les noms vernaculaires suivants : Kpankpatoulé (Kabyè) et Kpakpaï (Nawdba). Cette chenille a pour plante hôte *Parkia biglobosa* (Fabaceae). Les échantillons frais de chenille ont été récoltés en août 2013 dans les trois localités de la région de la Kara où elle est consommée à savoir Kpenzindé, Kémérida et Siou. Après le ramassage de la chenille sous la plante hôte, les échantillons ont été transportés au laboratoire d'entomologie Appliquée de l'Université de Lomé en vue de leur identification à l'aide des clés de détermination. Les échantillons de cette chenille destinés aux analyses chimiques ont été récoltés au cours de la même période, conservés dans une glacière contenant de la glace [14] et apportés au laboratoire de Biochimie Appliquée à la nutrition de l'Université de Lomé.

2.2. Détermination de la teneur en eau

Elle a été effectuée à l'aide de l'analyseur d'humidité électronique de marque SCALTEC (SM01 Instrument GmH, Allemagne) sur les échantillons frais de la chenille *I. obscura* selon les recommandations du fabricant.

2.3. Traitement des échantillons au laboratoire

Cinq grammes de chenilles fraîches de chaque localité où a eu lieu l'échantillonnage ont été pesés et mélangés pour obtenir un échantillon moyen. L'échantillon moyen a été introduit pendant 7 jours à l'étuve de marque ISUZU de type AS à 40° C pour leur séchage. Ils ont ensuite été broyés dans un Moulinex de type General Electric Interlabs pour les différents dosages.

2.4. Analyses chimiques

Détermination de la composition chimique globale et énergétique

La teneur en fibres totales a été déterminée selon la méthode de Weende [15]. Après une hydrolyse acide suivie d'une hydrolyse basique, les échantillons sont séchés à 150° C pendant une heure puis incinérés à 550° C pendant 6 heures. Le pourcentage de fibres totales (FT) dans l'échantillon a été obtenu par la formule suivante [15].

$$FT = \frac{\text{Masse du résidu après séchage} - \text{Masse de la cendre après incinération}}{\text{Masse de l'échantillon de la prise d'essai}} \times 100$$

Les cendres ont été produites par incinération des échantillons dans un four à 550° C pendant 6 heures [16].

Les protéines totales de la chenille ont été estimées par le dosage de l'azote total selon la méthode de Kjeldahl [17]. La teneur en protéines totales a ensuite été calculée en multipliant l'azote total par le facteur de conversion 6,25 [18].

Les lipides ont été extraits par l'hexane dans un Soxhlet. Les extraits lipidiques ont été évaporés sous vide à 35° C à l'aide d'un évaporateur R-114 RE (Büchi Labotfach, Switzerland).

La teneur en glucides totaux de la larve a été calculée par différence avec les pourcentages des autres constituants totaux selon la formule suivante [18] :

$$\text{Glucides} = 100 - (\text{Eau} + \text{Protéines} + \text{Lipides} + \text{Cendres} + \text{Fibres})$$

La valeur énergétique de 100 grammes d'échantillons a été déterminée en multipliant la teneur en pourcentage de chacun des macronutriments dosés par sa valeur énergétique à savoir : 17 kJ.g⁻¹, 38 kJ.g⁻¹, 17 kJ.g⁻¹ et 8 kJ.g⁻¹ de protéines, lipides, glucides et fibres respectivement puis en faisant la somme [18] :

$$\text{Energie} = 17 \times \text{Protéines} + 37 \times \text{Lipides} + 17 \times \text{Cendres} + 8 \times \text{Fibres}$$

Analyse des minéraux

Le détermination du profil des sels minéraux ont été analysés en solubilisant les broyats par attaque acide sur bain de sable. Le produit obtenu après solubilisation a été dosé grâce au spectrophotomètre par ionisation de flamme (Buck Scientific, Norwalk) suivant la longueur d'onde de chaque minéral pour le calcium, le magnésium, le sodium, le potassium, le fer, le cuivre, le manganèse. La teneur en phosphore a été déterminée en utilisant la méthode phosphovanado molybdate et l'absorbance a été évaluée à l'aide du colorimètre (Jenway modèle 6300) [19].

Analyse des vitamines

Le dosage des vitamines dans les échantillons a été fait selon les méthodes décrites par l'AOAC [16]. Les principes des méthodes d'analyse sont basés sur la coloration des molécules vitaminiques. La mesure de l'absorbance des solutions colorées a été faite grâce à un colorimètre (Jenway modèle 6300).

Analyse des lipides

La composition en acides gras des lipides de la chenille étudié a été obtenue par séparation des esters méthyliques des acides gras des lipides de cet insecte par chromatographie en phase gazeuse. L'étape préparatoire de l'analyse chromatographique a consisté en la transformation des acides gras en esters

méthyliques par transestérification des lipides bruts à l'aide d'une solution méthanolique de trifluorure de bore (BF₃-Méthanol) [20]. Un appareil de chromatographie en phase gazeuse HP 6890 series GC System (Hewlett-Packard) a été utilisé pour l'analyse.

2.5. Analyse statistique

Tous les essais ont été répétés trois fois. Des moyennes ont été calculées sur la base des trois répétitions. Elles ont été affectées de leurs déviations standards (SD).

3. Résultats et discussion

3.1. Composition chimique globale de la chenille *I. obscura* comparé à d'autres aliments protéinés

Les résultats obtenus au cours de cette étude montrent que 100 g de larves fraîches de *I. obscura* renferment 10,41 g d'eau, 53,36 g de protéines, 14,22 g de lipides, 12,22 g de fibres, 1,04 g de glucides et 10,3 g de cendres (tableau 1). La teneur en eau de la chenille *I. obscura* est plus élevée que la chenille *Imbrasia oyemensis* (Rougeot, 1955) (Lepidoptera : Saturniidae) qui est de 4,60 % ± 0,58 [21] mais comparable à celle de la chenille *Cirina forda* (Westwood, 1849) (Lepidoptera : Saturniidae) [22, 23] et à celle des graines de légumineuses comme le haricot et le soja [18]. Elle est faible comparée aux produits carnés conventionnels couramment consommés en Afrique de l'ouest (bœuf, poulet, chèvre, porc) et au poisson [18]. Cette faible teneur en eau permet une meilleure conservation physique de la chenille en évitant sa décomposition et une meilleure conservation de la plupart des nutriments de cette chenille [24].

Les résultats de cette étude montrent que les teneurs en protéines et en lipides de cette chenille sont comprises dans l'intervalle des teneurs en protéines (14 et 68%) et en lipides (5 et 49,5%) retrouvées généralement dans les lépidoptères comestibles [25]. En comparant les résultats de cette investigation avec ceux obtenus par Badanaro *et al.* [22] sur la chenille *C. forda* consommée également au Togo, il s'avère que *I. obscura* se montre plus protéique (53,36 % contre 51,43 %) et plus lipidique (14,22 % contre 9,25 %) que *C. forda*. Elle est également plus protéique que le bœuf, le poulet, la chèvre, le porc, le poisson, le haricot et le soja [18]. Les teneurs en protéines (72%) et en lipides (12,17%) obtenues pour cette même chenille en Afrique centrale dépassent celles obtenues au cours de cette étude [26]. Il ressort donc que la chenille *I. obscura* se classent parmi les aliments les plus protéiques. D'une manière générale, la plupart des chenilles consommées ont une forte teneur protéique (14 et 68%) [25]. C'est ce constat avait poussé la FAO [27] à promouvoir leur incorporation dans les farines pauvres en protéine afin de lutter contre la malnutrition infantile.

Les cendres issues de l'incinération des broyats de la chenille *I. obscura* ont permis de quantifier substances minérales de cette espèce qui se révèlent être élevées (10,3%) dans cette chenille. Cette teneur élevée en substances minérales permet de confirmer que cette chenille apporte aux populations qui les consomment une quantité suffisante de minéraux. En effet, les teneurs en minéraux de *I. obscura*

sont dix fois plus élevées que celle des produits carnés conventionnels et trois plus que les légumineuses consommées en Afrique de l'ouest [18].

La valeur énergétique pour 100g de *I. obscura* est élevée (1478,54 kJ). Les glucides, les protéines et lipides étant les éléments nutritifs qui produisent de la chaleur, l'espèce étudiée, étant à la fois riches en protéines et lipides, sa valeur énergétique est très élevée. Cette valeur est plus élevée que celle de la chenille *C. forda*. La consommation de *I. obscura* permet donc permettre de réduire les effets des carences énergétiques au sein des populations qui la consomment. Ces effets qui sont entre autres la propagation du marasme.

Par rapport aux carnés conventionnels tels que le bœuf, le poulet, la chèvre, le porc et le poisson qui ne contiennent pas de fibres alimentaires [18], la chenille étudiée (*I. obscura*) et *C. forda* [22] contiennent des quantités appréciables de fibres similaires (tableau 1) à celle des graines de légumineuses comme le haricot et le soja [18]. Cette chenille peut donc contribuer à une meilleure digestion pour les personnes de tout âge. En effet, une carence en fibres dans l'alimentation peut conduire à des troubles gastriques et intestinaux. En outre, les fibres ont un effet positif sur l'accélération de la satiété limitant ainsi, le risque de suralimentation. Ce qui contribue à prévenir l'obésité [28].

Tableau 1 : Composition chimique globale (% du poids total) et énergétique (kJ/100g) de la chenille *I. obscura* comparés à d'autres aliments protéinés

Espèces	Eau	Cendres	Protéines	Lipides	Fibres	Glucides	Energie
<i>I. obscura</i>	10,41 ± 0,33	10,3 ± 0,27	53,36 ± 0,05	14,22 ± 0,62	12,22 ± 0,62	1,04 ± 0,54	1478,54 ± 23,2
<i>C. forda</i> [22]	10,06 ± 0,12	18,43 ± 1,25	51,43 ± 3,8	9,25 ± 1,59	8,42 ± 0,45	2,39 ± 1,2	1324,72 ± 21,50
Bœuf [18]	73,2	1,0	21,7	4,3	0	0	978
Poulet [18]	72,9	1,0	20,4	5,9	0	0	563
Poisson [18]	79,8	1,2	17,1	1,2	0	0	335
Chèvre [18]	68,0	1,1	17,5	10,6	0	0	689
Porc [18]	60,1	1,1	16,8	22,0	0	0	1100
Soja [18]	7,9	3,9	34,7	15,9	9,4	28,3	1730
Haricot [18]	8,9	3,9	22,1	1,5	10,3	53,2	1420

3.2. Composition minérale de la chenille *I. obscura* comparé à d'autres aliments protéinés

La composition minérale de la chenille étudiée montre qu'elle est riche en macroéléments tels que calcium (132,03mg/100g), magnésium (84,42mg/100g), phosphore (112,02mg/100g), potassium (130,50mg/100g), sodium (26,96mg/100g) et en oligoéléments tels que fer (27,15mg/100g), cuivre (0,17mg/100g), zinc (1,07mg/100g) et manganèse (7,52mg/100g) (tableau 2). Les résultats obtenus pour

le calcium, le magnésium, le phosphore, le fer et le cuivre au cours de nos travaux sont semblables à celles obtenues pour *C. forda* [22, 23] et les légumineuses mais plus élevés pour les produits carnés conventionnels de consommation courante en Afrique de l'ouest [18]. Par contre, les teneurs en potassium sont plus élevés pour les produits carnés comparés aux chenilles et aux légumineuses. Ces résultats suggèrent que les teneurs en minéraux de ces insectes sont comparables à celle des légumineuses mais supérieures à celle produits carnés conventionnels pour la majorité des minéraux. La présence des minéraux dans les insectes est avantageuse car ils remplissent des rôles essentiels dans de nombreuses fonctions biologiques. En effet, le calcium, le potassium et le magnésium sont impliqués dans la régulation de la tension artérielle [29]. Le zinc est nécessaire pour le métabolisme cellulaire. Il joue un rôle important dans le renouvellement des cellules et la synthèse des protéines [30].

Tableau 2 : composition minérale (mg/100g) de la chenille *I. obscura* comparés à comparés à d'autres aliments protéinés

Espèces	Calcium	Magnésium	Phosphore	Potassium	Sodium	Fer	Cuivre	Zinc
<i>I. obscura</i>	132,03 ± 0,37	84,42 ± 2,40	112,02 ± 2,1	130,50 ± 0,63	26,96 ± 0,14	27,15 ± 0,61	0,17 ± 0,03	1,07 ± 0,61
<i>C. forda</i> [22]	206,19 ± 4,74	97,3 ± 0,66	233,09 ± 0,19	67,38 ± 0,22	35,03 ± 0,38	6,92 ± 0,12	3,55 ± 0,34	19,65 ± 0,16
Bœuf [18]	5	22	170	360	50	2,1	0,09	3,6
Poulet [18]	11	24	194	276	84	1,1	0,05	1,36
Poisson [18]	61	28	197	320	51	1,2	0,06	0,64
Chèvre [18]	11	27	150	385	82	2,4	0,16	3,45
Porc [18]	10	20	170	301	47	1,4	0,10	3,6
Soja [18]	206	249	536	1770	5	6,5	1,5	4,8
Haricot [18]	50	185	309	1370	28	3,3	0,82	2,39

3.3. Composition en vitamines recherchées de la chenille *I. obscura* comparés à d'autres espèces.

L'espèce d'insecte étudiée a des teneurs en vitamines (100g du poids sec de l'échantillon) variables (tableau 3) : vitamine A (0,02mg), vitamine B₁ (1,35mg), vitamine B₂ (2,12mg), vitamine B₃ (8,32mg) et vitamine E (4,10 mg). Toutes les teneurs en vitamines sont plus élevées dans *I. obscura* que dans les espèces classiques utilisées comme de protéines exceptées le rétinol qui est plus élevé dans le poulet et le poisson. Il en ait de même pour *C. forda* [8]. Le rétinol pourrait être complété dans un régime alimentaire d'insecte par d'autres source ce de micronutriments tel que les légumes de feuilles vert-foncées, des fruits orangés et l'huile de palme non raffinée généralement connus comme source de rétinol [31]. Les vitamines étant indispensable au bon fonctionnement de l'organisme, leur présence en quantité appréciable dans la chenille étudiée rehausse leur qualité nutritionnelle.

Tableau 3 : Teneur moyenne en vitamines recherchés (mg/100g du poids sec) de la chenille *I. obscura* comparés d'autres aliments protéinés

Espèces	Rétinol (A)	Thiamine (B ₁)	Riboflavine (B ₂)	Niacine (B ₃)	Tocophérol (E)
<i>I. obscura</i>	0,02 ± 0,00	1,35 ± 0,16	2,12 ± 0,11	8,32 ± 0,15	4,10 ± 0,07
<i>C. forda</i> [8]	0,02 ± 0,00	1,33 ± 0,02	2,56 ± 0,01	7,64 ± 0,15	4,55 ± 0,05
Bœuf [18]	0	0,06	0,19	6,2	0,35
Poulet [18]	17	0,09	0,16	7,0	0,26
Poisson [18]	2	0,06	0,19	6,2	0,23
Chèvre [18]	0	0,18	0,29	6,1	0,18
Porc [18]	0	0,72	0,22	3,8	0,1
Soja [18]	0	0,72	0,28	2	0,68
Haricot [18]	0	0,39	0,12	1,9	0

3.4. Caractéristiques des lipides de la chenille *I. obscura*

Les résultats du screening chimique réalisé sur les lipides de la chenille étudiée sont consignés dans le tableau 4. Les lipides de cette espèce contiennent des acides gras saturés tels que l'acide palmitique (25,51%) et l'acide stéarique (32,37%). Les valeurs du degré de saturation en lipides montrent que l'espèce étudiée contient des teneurs en acides gras saturés de 58,88 % (Tableau 4).

Tableau 4 : Composition moyenne en acides gras des lipides (%) de la chenille *I. obscura*

Acides gras	Pourcentage
Acide palmitique (C16:0)	25,51 ± 0,04
Acide stéarique (C18:0)	32,37 ± 0,06
Acides gras saturés	58,88 ± 0,01
Acide oléique cis (C18 : n-9)	30,57 ± 0,03
Acide élaïdique trans (18 : n-9)	0,46 ± 0,02
Acide gras mono-insaturés	31,03 ± 0,02
Acide linoléique (C18:2n-12)	4,82 ± 0,02
Acide α-linolénique (C18:2n-6)	1,87 ± 0,02
Acide γ- linoléique (C18:2n-12)	1,57 ± 0,01
Acide arachidonique (C20:4n-24)	2,33 ± 0,01
Acide gras polyinsaturés	10,60 ± 0,02
Oméga6/Oméga3	4,66

Ce qui ne correspond pas aux recommandations par l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA), qui conseillent un apport alimentaire maximum de 33% [32]. En effet, un taux élevé en acide gras saturé dans l'alimentation est considéré comme étant des facteurs de risque des accidents

cardiovasculaires. Des acides gras mono-insaturés sont également présents chez cette espèce. Il s'agit de l'acide oléique (30,57 %) et de l'acide élaïdique (0,46%) qui est l'isomère trans de l'acide oléique. A l'exception de l'acide élaïdique qui est de configuration trans, tous les autres acides gras des lipides de l'insecte étudié (0,46%) sont de configuration cis. Heureusement que la quantité retrouvée dans cet insecte est faible car une consommation trop élevée en acide gras trans est susceptible d'avoir un impact négatif sur la santé tout comme les acides gras saturés [33]. Les acides gras polyinsaturés contenus dans les lipides de cette chenille sont l'acide linoléique (4,82 %), l'acide α -linoléique (1,87 %), l'acide γ -linoléique (1,57 %) et l'acide arachidonique (2,33%). Le niveau de non saturation en acides gras polyinsaturés observé dans l'insecte étudié est faible (10,60%) puisque leur teneur est inférieure 15% [32]. Leur présence dans les aliments en quantité élevée est bénéfique pour la santé car ils possèdent le potentiel d'abaisser les taux de cholestérol-LDL dans le sang [34]. Cependant, cette espèce contient les deux acides gras essentiels (acide linoléique et acide α -linoléique) qui sont les précurseurs des deux familles d'acides gras (Oméga6 et Oméga3). L'espèce étudiée a un ratio Oméga6/Oméga3 inférieur à 5 attesté aussi par les travaux de Mabossy-Mobouna [24] sur cette chenille. Ce qui relève la qualité nutritionnelle des huiles de cet insecte car un tel ratio permet de réduire les risques de maladies cardiovasculaires [35].

4. Conclusion

La présente étude a pour intérêt de contribuer à la mise en valeur d'une ressource alimentaire non conventionnelle que constitue la chenille *I. obscura* par la détermination de sa composition nutritionnelle en comparaison avec d'autres aliments protéinés conventionnels. Étant donné la richesse en protéines, en lipides et en micronutriments essentiels de *I. obscura* ainsi que son importance pour la sécurité alimentaire, il est important d'envisager des mesures adéquates de sa gestion et de sa conservation afin de pérenniser cette ressource. Une bonne gestion de cette ressource devra passer par la réglementation de son exploitation ainsi que celle de l'arbre-hôte *P. biglobosa* qui est menacé par la fabrication de charbons de bois. Promouvoir l'intégration de la chenille *I. obscura* dans les recettes pour l'alimentation complémentaire des enfants ainsi que des femmes enceintes dans les pays en développement, pourrait avoir un impact significatif sur la prévention de la malnutrition infantile et en particulier du retard de croissance.

5. Remerciements

L'auteur remercie la Fondation Internationale pour la Science (IFS) pour un financement qui a permis la réalisation de ce travail.

6. Références bibliographiques

- [1]. FAO, Améliorer la foresterie pour réduire la pauvreté. Manuel du praticien. (2006). Disponible à <http://www.fao.org/docrep/009/a0645f/a0645f00.htm>. Consulted on 4/08/2020.

- [2]. PROFOR, Poverty and Forests Linkages: A Synthesis and Six Case Studies. (2008). Available at <http://www.profor.info/pdf/livelihoods/PovertyForestsLinkagesCaseStudiesSynthesis.pdf>. Consulted on 24/03/2020
- [3]. FAO, *Global Forest Resources Assessment. (2020). Available at <https://doi.org/10.4060/ca8753en>. Consulted on 1/09/2021.*
- [4]. Shackleton, S., Impacts of Climate Change on Food Availability: Non-Timber Forest Products, In B. Freedman (ed.), *Global Environmental Change*, 2014, Springer Netherlands, pp 695-700. available at https://doi.org/10.1007/978-94-007-5784-4_117
- [5]. Ibe G.O., Ezenwa L.I., Uwaga M.A. et Ngwuli C.P. Assessment of Challenges Faced by Non Timber Forest Products (NTFPS) Dependents' communities in a Changing Climate: A Case of Adaptation Measures in Ohafia LGA, Abia State, Nigeria, *J. Res. For, Wildl. & Environ.* (2018) 10(2), 2141-1778.
- [6]. Padakale E., Atakpama W., Dourma M., Dimobe K., Wala K., Guelly K. A. et Akpagana K. Woody species diversity and structure of *Parkia biglobosa* Jacq. Dong parklands in the sudanian zone of Togo (west africa), *Annu Res. Rev. Biol.*, (2015) 6(2), 103-114.
- [7]. Pison G., Sept milliards d'êtres humains aujourd'hui, combien demain? (2011) available at http://www.ined.fr/fichier/s_rubrique/211/482.fr.pdf, (13/05/ 2012).
- [8]. Badanaro F. 2015, Les insectes comestibles au Togo: ethnoentomologie et potentiel nutritionnel, Thèse de Doctorat : Université de Lomé, Togo. 2015.
- [9]. Epanda M.A., Donkeng R.T., Nonga F.N., Frynta D., Adi N.N., Willie J. et Speelman S., Contribution of Non-Timber Forest Product valorisation to the livelihood assets of local people in the northern periphery of the Dja faunal reserve, East Cameroon, *Forest*, (2020) 11, 1019-1035.
- [10]. Shidiki A.A., Zanguim T.G.H. et Tchamba N.M., Governance of Non-Timber Forest Products (NTPs) Djansang (*Ricinofendron heudelotii*) and wild Mango (*Irvingia gabonensis*) and its influence on the livelihood of rural communities of Yokadouma in the East region of Cameroon. *J. For.* (2021) 11 (2), 153-171.
- [11]. Vunda M. La valorisation des ressources forestières en Afrique centrale : état des lieux et perspectives de développement des produits forestiers non ligneux en Angola, au Cameroun, au Congo, au Gabon et en République Démocratique du Congo, Thèse de Doctorat : Université Clermont Auvergne, France. 2021.
- [12]. Offenberg J. *Oecophylla smaragdina* food conversion efficiency: prospects for ant farming, *J. Appl. Entomol.*, (2011) 135 (8), 575-581.

- [13]. Van Huis A., Joost Van Itterbeeck J., Klunder H., Mertens E., Halloran A. Muir G. and Vantomme P., Edible insects: future prospects for food and feed security, FAO Forestry Paper, 171, 2013. Rome.
- [14]. Akinnawo O. and Ketiku A. O. Chemical composition and fatty acid profile of edible larva of *Cirina forda* (Westwood). Afr. J. Biomed. res. (2000) 3, 93-96.
- [15]. AFNOR, Aliments des animaux. Méthodes d'analyse françaises et communautaires: Recueil de normes françaises, 1985, Paris.
- [15]. AOAC, Official Methods of Analysis, 15th edition, 1990, Washington DC.
- [17]. AOAC, Official methods of Analysis of AOAC International, 16th edition, 1995, Washington DC.
- [18]. Stadlmayr B., Charrondiere U., Enujiugha V., Bayili R., Fagbohoun E.G., Samb B., Addy P., Barikmo I., Ouattara F., Oshaug A., Akinyele I., Annor G.A., Bomfeh K., Ene-Obong H, Smith I.F., Thiam I. et Burlingame B., West African Food Composition Table, FAO : 2012, Rome.
- [19]. Pauwels J.M., Van Rans T.E., Verloo M. et Mvondo Z.E.A. : 1992, Manuel de Laboratoire de Pédologie. Méthodes d'analyses de sols et de plantes, équipement, gestion de stocks de verrerie et de produits chimiques. Publications Agricoles - 28. 1992, Bruxelles.
- [20]. AOCS, Official methods and recommended practices of the American Oil Chemist's Society, 5th edition. AOCS Press :1998, Champaign,
- [21]. Akpoussan R.A., Digbeu D.Y., Konan K.H., N'guessan Kouadio J.P.E., Dabonné S., Dué A.E. et Kouamé L.P. Nutritional characteristics of the caterpillars (*Imbrasia oyemensis*) from Côte d'Ivoire. Int. J. Rec. Biotech. (2014) 2 (3), 1-5.
- [22]. Badanaro F., Amevoin K., Lamboni C. et Amouzou K., Edible *Cirina forda* (Westwood, 1849) (Lepidoptera: Saturniidae) caterpillar among Moba people of the Savannah Region in North Togo: from collector to consumer. Asian J. Appl. Sci. Eng. (2014) 3 (8), 13-24.
- [23]. Omotoso O.T. Nutritional quality, functional properties and anti-nutrient compositions of the larva of *Cirina forda* (Westwood) (Lepidoptera: Saturniidae). Zhejiang Univ. SCIENCE B (2006) 7(1), 51-55.
- [24]. Mabossy-Mobouna G., Malaisse F., Richel A., Maessen P., Latham P., Roulon-Doko P., Madamo Malasi F. et Lognay G. *Imbrasia obscura*, an Edible caterpillar of tropical Africa: Chemical composition and nutritional value, Tropicacultura. (2018) 36,798-811.
- [25]. Xiaoming C., Ying F. et Hong Z., Review of the nutritive value of edible insects, pp 85-92. In : Durst P. B., Johnson D. V., Leslie R. N. and Shono K. (Eds.), Forest insects as food: humans bite

back. Proceedings of a workshop on Asia-Pacific resources and their potential for food development, 2013, Bangkok

[26]. Mabossy-Mobouna G., Kinkela T., Lenga A. et Malaisse F., *Imbrasia truncata* Aurivillius (Saturniidae): Importance en Afrique centrale, commercialisation et valorisation à Brazzaville, *Geo-Eco-Trop.* (2013) 37(2), 313-330.

[27]. FAO. Les insectes comestibles, importante source de protéines en Afrique centrale (2004). Disponible à <https://news.un.org/fr/story/2004/11/63062>. Consulté le 06/03/2022.

[28]. Park Y., Subar A.F., Hollenbeck A. et Schatzkin A., Dietary fiber intake and mortality in the NIH-AARP Diet and Health Study. *Arch Intern Med*, (2011) 171, 1061-1068.

[29]. He F.J. et Macgregor G.A., Beneficial effects of potassium on human health, *Physiol Plant* (2008)133, 725-35.

[30]. Claeysen R., Zinc et brûlure : Etude du statut en zinc et de l'influence de la supplémentation sur un modèle animal de brûlure sévère. Approche métabolique et moléculaire. Thèse de doctorat : Université Joseph-Fourier - Grenoble I, France, 2009.

[31]. Wasantwisut E., Chittchang U. et Sinawat S., Moving a health system from a medical towards a dietary approach in Thailand. *Food Nut. Bull.* (2000) 21,157-60.

[32]. Legrand P., Bourre J.M., Descomps B., Durand G., Renaud S., Lipides, pp 63-82. In : Martin A. (editor). *Apports nutritionnels conseillés pour la population française*, 2001, Paris.

[33]. Afssa, Avis du 20 février 2009 sur l'estimation des apports en acides gras trans dans la population française, Alfort (éditeur), France, 2009.

[34]. Dallongéville J., Gruson E. et Dauchet L., Acides gras alimentaires et risque cardiovasculaire, *Cahier de Nutrition Diététique.* (2008) 43,152-157.

[35]. Stanley J.C., Elsom R.L., Calder P.C., Griffin B.A., Harris W.S., Jebb S.A., Lovegrove J.A., Moore C.S., Riemersma R.A. et Sanders T.A. UK Food Standards Agency Workshop Report: the effects of the dietary n-6: n-3 fatty acid ratio on cardiovascular health. *British. Nutr.* (2007) 98, 1305-1310.

C28

Activité antiaflatoxinogène de formulations biofongicides utilisées dans la conservation post-récolte de maïs au Burkina Faso

DINDANE Zakaria¹, SOALA W. Romain³, OUATTARA Lamoussa Paul², SAWADOGO Ignace², ZONGO Cheickna⁴, KONATE Kiéssoun¹, ZIDA P. Elisabeth³, NEBIE C. H. Roger²

¹Laboratoire de Biochimie, Biotechnologie, Technologie Alimentaire et Nutrition (LABIOTAN), UFR/SVT, Université Joseph KI-ZERBO 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

²Laboratoire des Technologies de Produits Naturels et Environnement (LabTech-PRONE), CNRST/IRSAT, Département Substances Naturelles ; 03 BP 7047 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

³Laboratoire de Phytopathologie, (CNRST/ INERA), CREAM Kamboinsé, 04 BP 8645 Ouagadougou 04, Burkina Faso.

⁴Laboratoire de Biochimie et Immunologie Appliqué (LABIA), UFR/SVT, Université de Ouagadougou, 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

Auteur correspondant : deco28zakaria@gmail.com / +226 77304875

INTRODUCTION

L'agriculture est confrontée à d'innombrables difficultés liées aux champignons phytopathogènes et aflatoxinogènes à l'origine des pertes poste-récoltes dont 40% de la production du maïs dans les pays en développement, 80% en Afrique sub-saharienne (Nukenine et al., 2002) et d'intoxications alimentaires à l'origine d'environ 60% des mortalités infantiles (ONU, 2002). Ces effets néfastes ont accentué la lutte institutionnelle et scientifique contre les aflatoxines dans les céréales en Afrique. Les produits chimiques de synthèse bien qu'efficace n'ont pas pu réduire les cas d'intoxications alimentaires. Face à ces problèmes, la recherche scientifique s'oriente jadis vers les substances naturelles à la fois efficaces, moins toxiques et respectueuses de l'environnement (ReCMA-BF). De nombreuses études antérieures ont fait cas de l'efficacité de substances d'origine microbiennes dont Aflasafe mais très peu d'informations concernant l'efficacité antiaflatoxinogènes des plantes sont disponibles. Nous avons donc mené une étude pour explorer l'activité antiaflatoxinogène de deux formulations biofongicides utilisées dans la conservation post-récolte de maïs au Burkina Faso.

MATERIEL ET METHODES

Dans cette étude, l'activité antiaflatoxinogène de formulations poudreuses à base d'huiles essentielles de *Cymbopogon giganteus* (F₁) et d'*Eucalyptus camaldulensis* (F₂) produites à CNRST/IRSAT au 1^{er} (t₀) et 30^e (t₃₀) jour de leur application au maïs de la variété KEB collectée à Dédougou pendant la période de septembre aux doses 0,5 et 1% a été évalué à partir des tests de dosage des aflatoxines par chromatographie liquide à haute performance comme décrite par Compaoré et al. (2021) avec comparaison à des témoins non traités.



Figure 1 : Diagramme

RESULTATS ET DISCUSSION

- Le test de quantification par la HPLC a permis de détecter 3 types de molécules d'aflatoxines dont les AFB1, AFG2 juste après application des traitements (t_0) et les AFB1, AFB2 au 30e jour après traitement (t_{30})
- Les taux d'aflatoxine sont largement supérieurs aux normes imposées par le Codex Alimentarius dont respectivement de 2 ppb et 5 ppb en AFB1 et AF totales (Codex, 2020) dans les NT.
- Ces aflatoxines détectés seraient produits par *A. flavus* et *A. parasiticus*.
- A t_0 , les formulations F1 et F2 ont respectivement réduit les aflatoxines B1 (de 7,59 et 4,17 $\mu\text{g}/\text{kg}$), G2 (0,17 et 0,52 $\mu\text{g}/\text{kg}$) à la dose 0,5%, et totalement inhibé la synthèse d'aflatoxines à 1%.
- A t_{30} , les formulations F1 et F2 ont respectivement encore réduit les aflatoxines B1 (de 9,6 et 0,12 $\mu\text{g}/\text{kg}$) à la dose 0,5%, et totalement inhibé la synthèse d'aflatoxines à 1%.

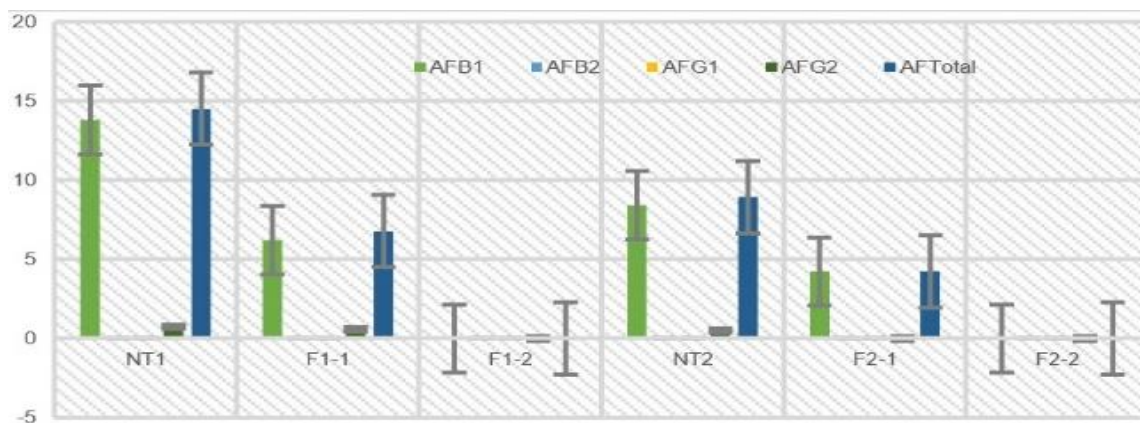


Figure 2 : Données quantitatives des Aflatoxines à t_0

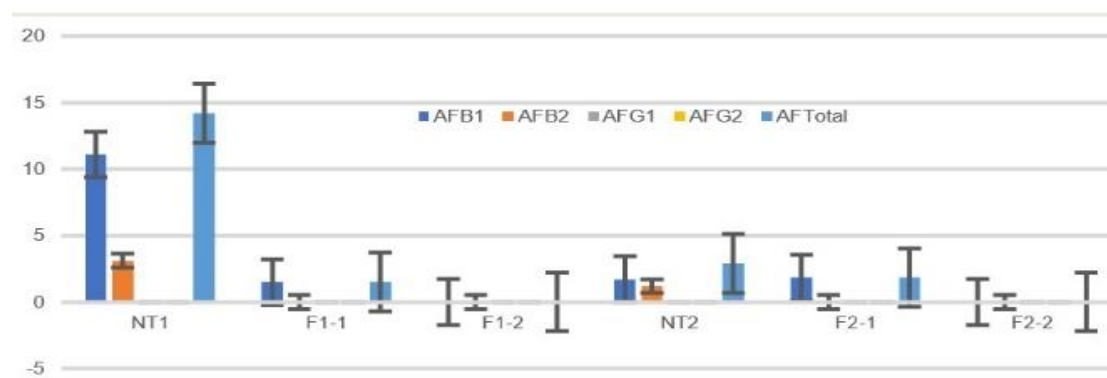


Figure 3 : Données quantitatives des Aflatoxines à t₃₀

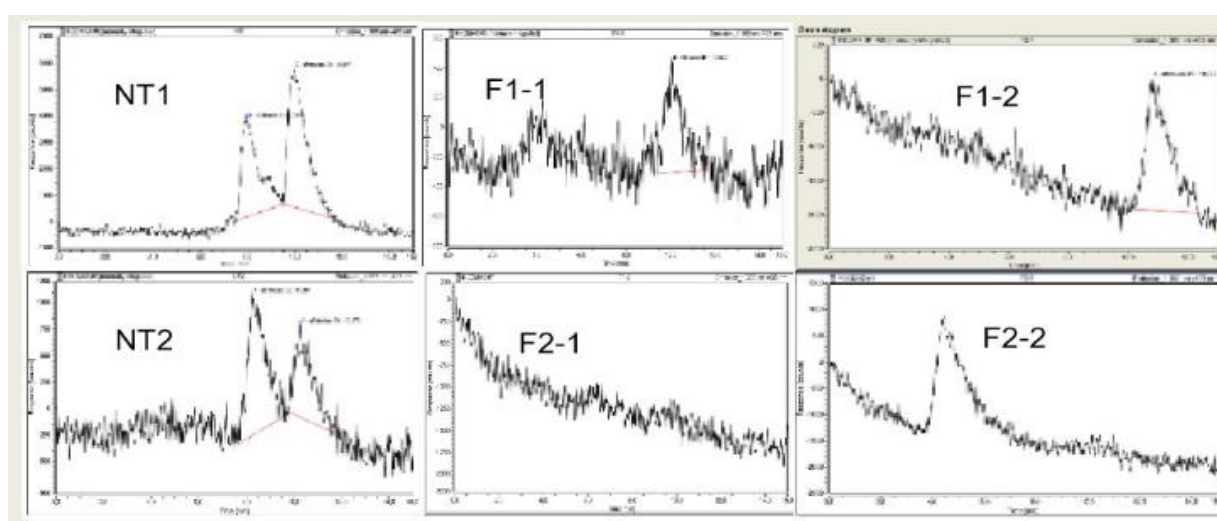


Figure 4 : Chromatogramme des échantillons NT1, NT2, F1-1, F1-2, F2-1, F2-2 à T₀

CONCLUSION

En somme, L'étude du dosage des aflatoxines par HPLC des 12 échantillons de maïs a révélé qu'à la différence des quatre (4) échantillons traités à la dose 2, les taux d'aflatoxines détectés dans les quatre (4) échantillons traités aux doses 1 et les deux échantillons non traités par les deux formulations ont dépassé les normes exigées par le Codex Alimentarius (2 ppb d'AFB1 et 5 ppb d'AF totaux). Toutefois les traitements à la dose 1 ont pu réduire les aflatoxines et ceux à la doses 2 ont éliminé et préservé le maïs de ces toxines jusqu'à 30 jours de conservation après leurs applications.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

Hamidou, C., Serge, S., Fidèle, W. T., Alima, B., Hissein, R., Ignace, S., Donatien, K., Pane, B. O. S., & Hagrétou, S. L. (2021). Potentiel aflatoxinogène d'*Aspergillus* section *Flavi* isolé à partir de semences de maïs, au Burkina Faso. *Journal africain de recherche en microbiologie*, 15(8), 420–428. <https://doi.org/10.5897/ajmr2021.9553>.

Nukenine, E. N., Monglo, B., Awason, I., Ngamo, T. L. S., Tchuenguem. F. F. N. & Ngassoum, M. B. (2002). Perception des agriculteurs sur certains aspects de la production de maïs et niveaux d'infestation du maïs stocké par *Sitophilus zeamais* dans la région de Ngaoundéré au Cameroun. *Cameroonian Journal of Biology and Biochemical Sciences*, 12, 18-30.

Organisation des Nations Unies (ONU), (2002). *Suivi de l'ONU, L'ONU et les droits de*

REMERCIEMENT

- Le projet dénommé ReCMA-BF ou Réduction de la Contamination du Maïs et sous-produits à base de maïs par les Aflatoxines au Burkina Faso;
- Laboratoire National de Santé Publique (LNSP);
- Laboratoire de Biochimie, Biotechnologie, Technologie Alimentaire et Nutrition (LABIOTAN);
- Laboratoire des Technologies de Produits Naturels et Environnement (LabTech-PRONE), CNRST/IRSAT, Département Substances Naturelles.

Impact of storage conditions on the physicochemical characteristics of baobab (*Adansonia digitata* L.) Seed oil.

**Edouard Mbarick NDIAYE^{*1}, Pape Guédel FAYE, Alioune SOW², Khadim NIANE, Seyni Ndiaye,
Samba Baldé, Omar Ibn Khatab, Cisse³, Nicolas Cyrille AYEISSOU¹, Mady Cisse¹.**

¹ Laboratory of Water Energy Environment and Industrial Processes (LE3PI), ESP-UCAD, Dakar Center of Studies on Food Security and Functional Molecules (CESAM-RESCIF), ESP-UCAD, BP 5085- Dakar, Senegal.

² Laboratoire de Biologique, Agronomic, Food Sciences and Modeling of Complex Systems (LABAAM), UFR of Agronomic Sciences, Aquaculture and Food Technologies (S2ATA), Gaston Berger University of Saint-Louis, Route de Ngalléle, BP 234, Saint-Louis, Senegal.

³ Ecole Nationale Supérieure d'Agriculture, Université Iba Der Thiam de Thiès, BP 967, Thiès, Sénégal.

*Correspondence, Edouard Mbarick NDIAYE; papaedou@gmail.com

Abstract

The evolution of some quality markers of baobab (*Adansonia digitata* L.) was studied. Baobab oil extracted by pressing was packaged in 30 mL non-amber glass bottles and stored at different temperatures: 20, 30 and 45°C. The physicochemical parameters (acid, peroxide, iodine, saponification, refraction and color indices) were determined during three month's storage. A significant 5% increase in acid, peroxide and saponification indices was observed over time. However, the iodine index decreased. The yellowing and refractive indices remained stable while storage at 45°C caused the most significant changes of chemical parameters. The results obtained show that oils stored at 20°C had the lowest acid (2.42 ± 0.26 mg KOH/g) and peroxide (0.82 ± 0.25 mEqO₂/Kg) indices after three months of follow-up.

KEYWORDS: *Adansonia digitata* L.; Oil; Seeds; Physicochemical; Storage.

1. INTRODUCTION

Adansonia digitata L., also called African baobab, is an emblematic tree of the African savannah [1] [2]. It belongs to the family Bombacaceae, order Malvales and plays an important social, environmental and economic role [3] [4]. The baobab fruit contains black to brown seeds covered with a whitish pulp. The seeds, which represent more than half of the dehusked fruit, are under-exploited compared to the pulp [5] [6]. Today, they are highly prized because of the lipids (12.2%) they contain [1] [2]. Baobab seed oil is highly sought after by the cosmetic and pharmaceutical industries because of its biochemical composition [6]-[9]. Indeed, baobab oil contains more than 60% of unsaturated fatty acids such as oleic acid (36.43%), linoleic acid (26.85%) and palmitoleic acid, margaroleic, α -linoleic and gadoleic [10]. However, like other vegetable oils, baobab seed oil undergoes a number of transformations during storage related to unsaturated fatty acids such as auto-oxidation reactions [11] [12]. It depends on several factors including the degree of unsaturation of the oil, free fatty acids, the content of minor compounds

with pro or antioxidant activity (minerals, tocopherols, carotenes, chlorophylls) and storage conditions [11]-[14].

The objective of the present work was to study the stability of baobab oils (*Adansonia digitata* L.) during storage by monitoring physico-chemical parameters characteristic of the oxidation reactions of vegetable oils, such as acid, peroxide, iodine, saponification, refraction and yellowing indices.

1. MATERIALS AND METHODS

1.1. Plant material

The plant material consists of seeds from the fruit of baobab (*Adansonia digitata* L.), dehulled and pulped. The fruits were harvested in the region of Thies, Senegal (2019) (latitude: 14°50'03" North; longitude: 17°06'21" West). A total mass of 75 kg was divided into three batches of 25 kg.

2.2 Extraction of oil from Baobab seeds

Baobab fruits consist of seeds coated with whitish pulp (Figure 1). This dry pulp is removed by a 316N stainless steel pulping machine equipped with a 150 µm sieve. The pulped seeds are crushed by a mill with a capacity of 300 to 350 kg.h⁻¹ with a power of 7.5 CV. The seeds are ground by a mill with a capacity of 300 to 350 kg.h⁻¹ and a power of 7.5 HP, equipped with sieves with holes of diameter 1. The crushed material is then sieved (02 mm diameter) at a speed of 2800 rpm. Finally, the crude oil is extracted with a press of type KOMET, DD85G (IBG Monforts Ockotec GmbH, Germany). This press has a 10 mm die for a rotation speed of 25 rpm and an outlet head set at 105 °C for 25 min.

Thus, the crude oil obtained is mixed with impurities. It is therefore left to decant for several days and then filtered under vacuum using cloth filters. The light yellow oil is stored at 4°C before the physico-chemical analysis.

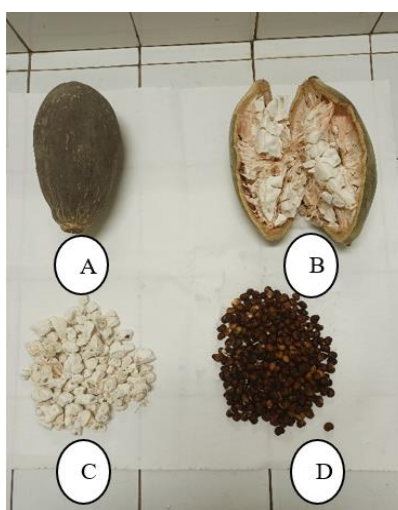


Figure 2. Illustration of baobabfruit (A), open baobab fruit (B), baobab seeds with pulp (C) and baobab seeds without pulp.

2.3 Methods of analysis

The refractive indices of yellowing, peroxide (NF T60-220), acid (NF T60-204), iodine (NF T60-203) and saponification (NF T60-206) were determined in order to evaluate the impact of storage on these quality markers of baobab seed oil (*Adansonia digitata* L.) [15]. Thus, the refractive index was determined with a refractometer (EXACTA-OPTECH, Mod-RMT, Germany). The yellowing index was evaluated with a colorimeter type CM-5, Konica Minolta Sensing Americas Inc, US.

2.4. Monitoring the stability of baobab oil during storage

The oxidation stability of baobab oil was monitored on three batches of oil at different storage temperatures (20, 30 and 45°C). For this purpose, the extracted oil is conditioned in transparent glass bottles of 30 mL and then analyzed at different times. This characterization allowed to determine the initial quality of the oil and its evolution during three months of storage.

2.5. Statistical analyses

The physico-chemical characteristics data were subjected to a principal component analysis (PCA) and numerical classification to verify the correlations between the storage conditions and the evaluated indices. Also, the one-factor analysis of variance and Fischer's LSD test at the 5% significance level were performed to compare the means. The results obtained represent the average of three analyses and R (version 3.2.4, 2016) and STATISTICA (version 7.1) software were used.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Initial characteristics of baobab oil

The physicochemical parameters of the seed oil of *Adansonia digitata* L. fruit were initially determined before storage. The results of the measured indices are recorded in Table 1.

Table 1. Initial physico-chemical characteristics of baobab oil

Characteristics	Oil of baobab (<i>Adansonia digitata</i> L.)
Yellowing index	85.15 ± 0.05
Refractive index	1.465 ± 0.005
Acid index (mg KOH/g)	0.50 ± 0.06
Peroxide value (mEqO ₂ /Kg)	0.5 ± 0.00
Iodine index (mgI ₂ /100g)	89.20 ± 0.96
Saponification index (mg KOH/g)	209.28 ± 0.38

Baobab oil has a high yellowing index (85.15). This high value could be correlated with the content of unsaponifiable matter such as carotenoids [10] (Sow, 2019). In addition, the refractive index obtained (1.468 < n_D^{20} < 1.470) and iodine (89.20) allow us to say that baobab oil is non-drying. In addition, it is rich

in unsaturated fatty acids. Baobab oil initially has a relatively low acid (0.5 mg KOH/g) and peroxide (0.5 mEqO₂ /Kg) index. These levels reflect a slight oxidation of the oil and a low hydrolysis of triglycerides [16]. Finally, the saponification index of 209.28 mg KOH/g shows its ability to transform the oil into soaps. These results obtained are in phase with those of Sow et al, (2007). The authors found the following values for the oil extracted from unwashed baobab seeds from Ziguinchor: 1.465 for the refractive index, 89.63 for the yellowness index, 2.94 mEqO₂ /Kg for the peroxide value, 0.92 mg KOH/g for the acid value, 86.23 mgI₂/100g for the iodine value and finally, 201.49 mg KOH/g for the saponification value.

3.2 Evolution of the physicochemical characteristics of baobab oil during storage

During storage, vegetable oils are subject to numerous physical and chemical transformations under the influence of certain factors such as light, heat, water and traces of metals [12]. The physico-chemical characteristics of baobab oil stored in non-ambered glass bottles were monitored at different temperatures (20, 30 and 45°C) for three months.

3.2.1. Effects of storage conditions on physical properties

The physical parameters studied are the yellowness index and the refractive index. The results obtained are presented in figures 2 and 3.

Yellowing index

The yellowing index gives an account of the yellow coloration of the oil. This coloration could be due to the presence of carotenoids. Correlations have been established between the concentration of carotenoids and the yellow coloration of oils [10], [17], [18]. After three months of storage at temperatures (20, 30, and 45°C), this parameter has hardly changed, showing that the carotenoids in baobab oil have remained stable and are only slightly altered during the 90 days of follow-up.

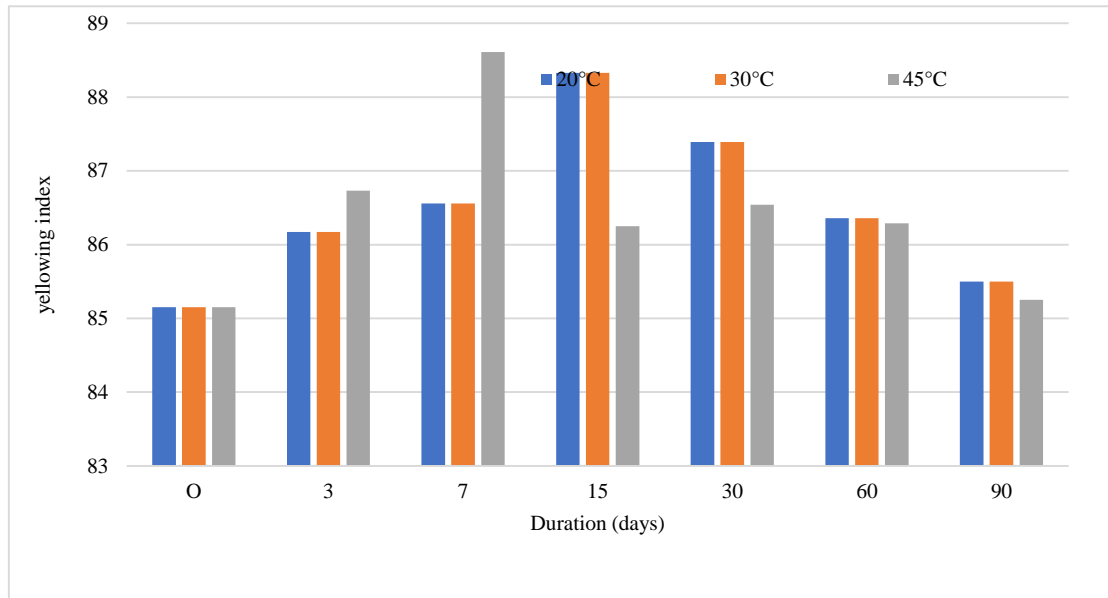


Figure 2. Evolution of the yellowing index of the seed oil of the fruit of *Adansonia digitata* L. stored at 20, 30 and 45°C over time

Refractive index

The measured values ($1.464 - 1.465 \pm 0.0005$) are in agreement with those found by Sow (2019) (1.4648 ± 0.0002). The refractive index ($1.464 - 1.465 \pm 0.0005$) and iodine index ($88.95 \pm$) obtained show that baobab oil is nondrying and is comparable to olive oil which displays (81.23 ± 0.40) iodine index and (1.471 ± 0.001) refractive index [10], [18]. The analysis of variances at the 5% threshold does not reveal a significant difference on the refractive index. Similarly, we can say that the storage temperature has no major effect on the refractive index of baobab oil stored for 3 months at (20, 30 and 45°C). The refractive index remains stable and averages between 1.464 and 1.465. These values attest to the low level of trimers in the oil studied.

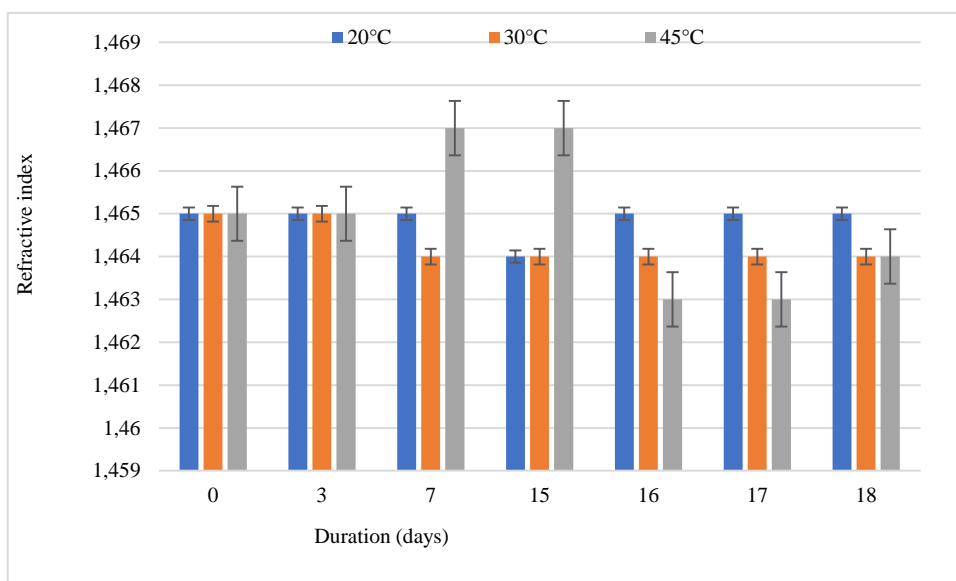


Figure 3. Evolution of the refractive index of the seed oil of the fruit of *Adansonia digitata* L. stored at 20, 30 and 45°C over time

3.2.2. Effects of storage conditions on chemical parameters

Acid index

The acid number allows us to assess the degree of alteration by hydrolysis of an oil and the value of technological operations that led to its obtaining [19]. It corresponds to the free fatty acids present in the oil. The acidity of baobab oil stored at 20, 30 and 45 °C in the oven, increases over time (Figure 4).

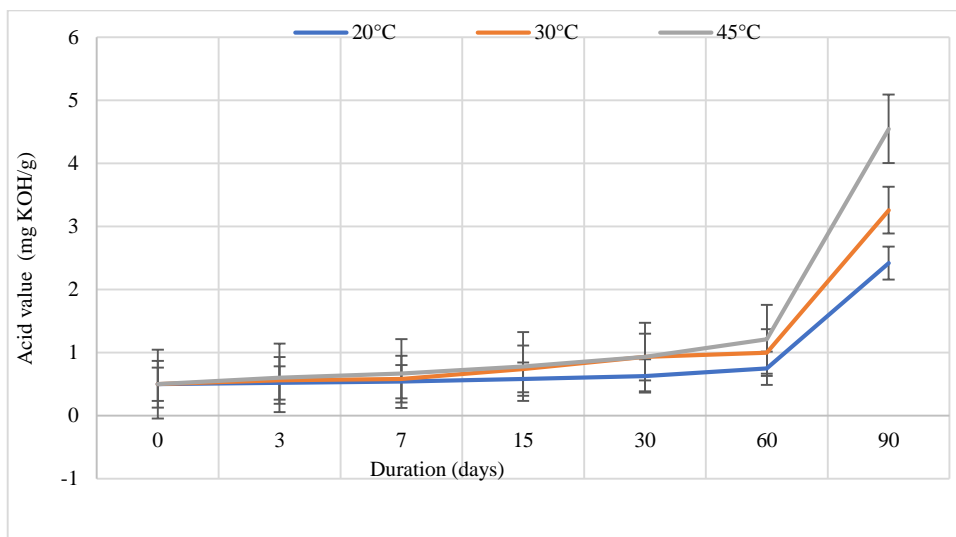


Figure 3. Evolution of the acid value of the seed oil of the fruit of fruit of *Adansonia digitata* L. stored at 20, 30 and 45°C over time.

The oil stored at 20°C shows a regular evolution of the acid number with the duration of storage. However, at 30°C and 45°C, the increase in acid value is strong. Indeed, the greatest variation in acidity

between the second and third month of storage (0.74 to 2.42 mg KOH/g; 1 to 3.26 mg KOH/g and 1.21 to 4.55 mg KOH/g). Dandjouma et al (2008) found for *C. Schweinfurthii* oil stored at room temperature, an acid value of 6.93 mg KOH/g at the first day of storage, 7.41 mg KOH. g⁻¹ at the first month of storage and 8.34 mg KOH.g⁻¹ at the second month against 6.93 mg KOH.g⁻¹ at the first day of storage, 7.14 mg KOH.g⁻¹ at the first month and 7.41 mg KOH.g⁻¹ at the second month of storage of *C. Schweinfurthii* oil at 4°C. These results confirm the effect of temperature and time on the acid number. The acid indices of the samples found, except for the one stored at 45°C, are lower than the limit value (4 mg KOH/g oil) set for oils obtained by cold pressing and virgin oils [20]. In sum, the storage conditions and time have a significant influence at the 5% threshold on the free fatty acid content of oils. Indeed, the increase in the acid index of the third month would be accentuated by the presence of chlorophyll. The latter, by degrading, produces acidic compounds that would contribute to the increase of the acidity of the oil. The results obtained are in agreement with those indicated by [12]. (Dandjouma et al., 2008).

Peroxide value

The peroxide value allows us to follow the stages of deterioration by oxidation of the oil. It indicates the amount of fatty acids already rancid and information on the duration of storage because the longer the storage, the higher it is [21]. The peroxide value is therefore an important parameter for monitoring oils. Whatever the storage temperature, an increase in the peroxide value is noted (Figure 5). However, a slow evolution of the peroxide value for the sample stored at 20°C ($0.5 \pm 0.00a$ to $0.82 \pm 0.25ab$ mEqO₂ /Kg) is noted. This increase was more noticeable from the thirtieth day of storage with the oils stored at 30 ($1.15 \pm 0.46bc$ to $3.68 \pm 0.40g$ mEqO₂ /Kg) and 45°C ($2.95 \pm 0.39f$ to 5.33 ± 0.45 mEqO₂/kg). Nevertheless, the values of the peroxide value found at the end of storage (third month) for all oils remain below the threshold value (15 mEqO₂/kg) set by codex (1999). The analysis of variance at the 5% threshold shows the effect of temperature on the degradation of oils. The results obtained are in agreement with those reported by Dandjouma et al., (2008). The effect of storage (time temperature and light) on the peroxide value is confirmed by the work of Dandjouma et al., (2008). The authors found a peroxide value of *C. Schweinfurthii* oil equal to 3.40 mEqO₂/kg on the first day of storage, 7.83 mEqO₂/kg on the first month and 12.35 mEqO₂/kg on the second month of storage at room temperature against 3.40 mEqO₂/kg on the first day of storage, 5.51 on the first month and 9.05 mEqO₂/kg on the second month of storage at 4°C.

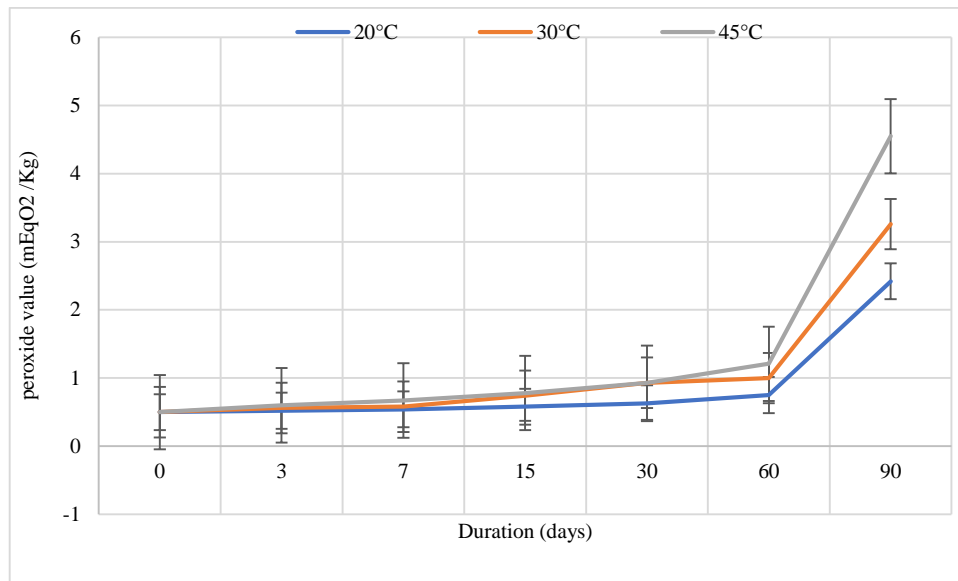


Figure 5. Evolution of the peroxide value of the seed oil of the fruit of *Adansonia digitata* L. stored at 20, 30 and 45°C over time.

Iodine value

The iodine value determines the degree of unsaturation of a vegetable oil and assesses its stability during storage. The Figure 6 shows the evolution of the iodine value of baobab oil stored at different temperatures (20, 30, and 45°C) for three (3) months. These results show that the iodine value varies significantly with the storage conditions. It decreases with the increase of the storage temperature and passes from $89.20 \pm 0.96a$ to $70.53 \pm 0.34j$ mg I₂/100g of oil for the samples stored at 45°C; from $89.20 \pm 0.96a$ to $76.93 \pm 0.63h$ mg I₂/100g of oil for the samples stored at 30°C and finally from $89.20 \pm 0.96a$ to $83.41 \pm 0.86e$ mg I₂/100g of oil for those stored at 20°C. Indeed, this decrease in iodine value is correlated to the degradation of unsaturated fatty acids by heat. Iodine values below 100 mg I₂/100g of oil classify baobab oil as a non-drying oil [22]. Finally, baobab oil is comparable to olive oil (75-94 mg I₂/100g oil) widely used in the cosmetic and pharmaceutical industries [2] [23].

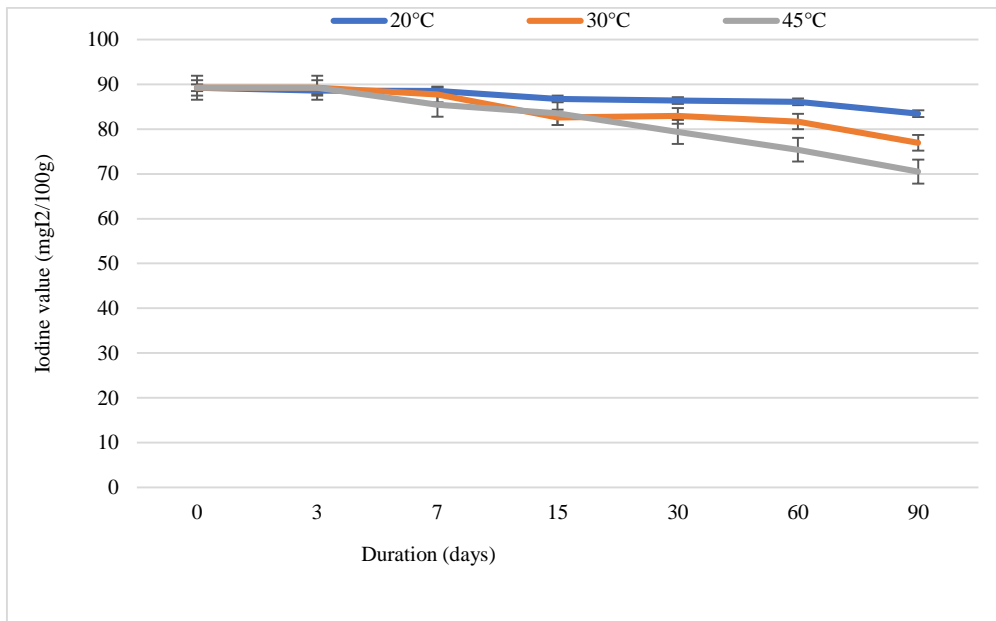


Figure 6 : Evolution of the iodine value of *Adansonia digitata* L. seed oil fruit of *Adansonia digitata* L. stored at 20, 30 and 45°C over time.

Saponification value

The saponification value is the mass (in milligrams) of potassium hydroxide (KOH) required to saponify one gram of fat. The saponification number initially measured was $209.28 \pm 0.86a$ mg KOH/g. After three months of steaming at 20, 30 and 45°C, this index increased to $210.69 \pm 0.05bcd$, $232.65 \pm 0.39h$ and $248.48 \pm 0.05i$ mg KOH/g respectively. This increase describes the aging of the oil which is manifested by the increase in rancid odor. The significant difference noted between the three samples monitored can be attributed to the storage temperature, light [11]. These results obtained also indicate that the saponification index of baobab oil is higher than those of argan oil (190.88 mgKOH/g), persea americana oil (35.76 mg KOH/g) and olive oil (97.94 mg KOH/g) [2], [18].

In sum, these results confirm the effect of temperature and time on the quality of vegetable oils.

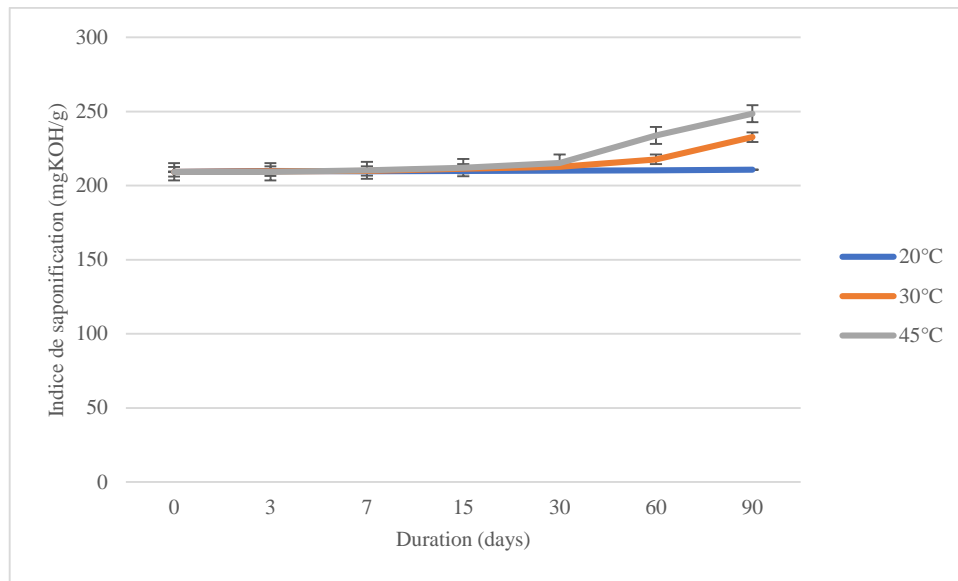


Figure 7: Evolution of the saponification index of *Adansonia digitata* L. fruit seed oil stored at 20, 30 and 45°C over time.

Table 2. Pearson's correlation coefficients between storage temperature, duration and physicochemical properties of baobab oil (*Adansonia digitata* l.).

Variables	Time/temperature	Acid value	Peroxide value	Iodine Value	Saponification index	Refraction Index	Jaunissement index
Acid value	0,64						
Peroxide value	0,71	0,74					
Iodine value	-0,84	-	-0,94				
Saponification index	0,67	0,75	0,94	-0,92			
Refraction index	-0,37	-	-0,33	0,45	-0,46		
Jaunissement index	-0,04	-	-0,27	0,21	-0,32	0,05	1

3.3. Statistical analysis

3.3.1. Correlation between temperature, time and the studied quality indices of

Baobab oil

The correlation study between temperature, storage time and physicochemical properties of baobab seed oil (Table 3), shows that storage time and temperature have positive correlations with acid, peroxide and saponification indices and index. However, with refractive, yellowing and iodine indices, temperature, time and light have negative correlations. The relationship between physicochemical indices reported a

strong positive correlation of peroxide and saponification indices with the acid index. The saponification index is positively highly correlated with the peroxide index and negatively highly correlated with the iodine index. The latter is negatively correlated with the peroxide and acid indices.

3.3.2. Principal component analysis

A principal component analysis (PCA) was conducted to assess the impact of storage conditions on baobab oil quality. The first two dimensions (DIM1 and DIM2) express 80.48% of the total inertia (Table 3). Thus, the first dimension (Dim1) alone contributes 63.62% and the second (Dim2) 16.86%. The variables acid number (0.829), peroxide number (0.950) and saponification number (0.969) are positively correlated very well with the first dimension while the variables refractive index (-0.485), yellowness index (-0.390) and iodine number (-0.949) are negatively correlated. The second dimension is characterized by the variables refractive index (0.607) which is positively correlated and the variable yellowing index (-0.743) which is negatively correlated.

Table 3. correlations between components and variables.

Variables	Components	
	Dim1	Dim2
Refraction index	-0.485	0.607
Jaunissement index	-0.390	-0.743
Acid value	0.829	0.255
Peroxyde value	0.950	-0.019
Iodine value	-0.949	0.147
Saponification index	0.969	-0.052
Eigenvalue	10.78	20.68
Variance (%)	63.616	16.860
Variance cumulée (%)	63.616	80.476

The baobab oil samples analyzed were grouped into three classes (Figure 2 and 3). Class 1 consists of oils stored at temperatures 20 °C on days (JO, D3, D7, D30, D60, D90), 30 °C hang (D0, D3), and 45°C hang (D0, D3, D7, D15) with an iodine value (V. Test ≥ 2 , $p \leq 0.05$) and refractive index (V.Test ≥ 2 , $p \leq 0.05$) and a low peroxide value (V.Test ≤ -2 , $p \leq 0.05$) and saponification value (V.Test ≤ -2 , $p \leq 0.05$). A high yellowing index (V.test ≥ 2 , $p \leq 0.05$) and a low refractive index (V.test ≤ 2) characterizes the second class consisting of oils stored at temperatures 20°C during (15 days), 30°C during (7, 15, 30 and 60 days) and 45°C during (30 and 60 days). Finally, the third class, which represents baobab oils stored at 30 and 45°C for 90 days, is characterized by high acidity, acid number (V.test ≥ 2 , $p \leq 0.05$), peroxide number (V.test ≥ 2 , $p \leq 0.05$), and saponification number (V.test ≥ 2 , $p \leq 0.05$), and low iodine number

($V.test \geq 2$, $p \leq 0.05$). In sum, from these analyses, it can be seen that oils stored at low temperatures for a long time and oils stored at high temperatures for a very short time are better in terms of quality for the processing industries (cosmetics and pharmaceuticals).

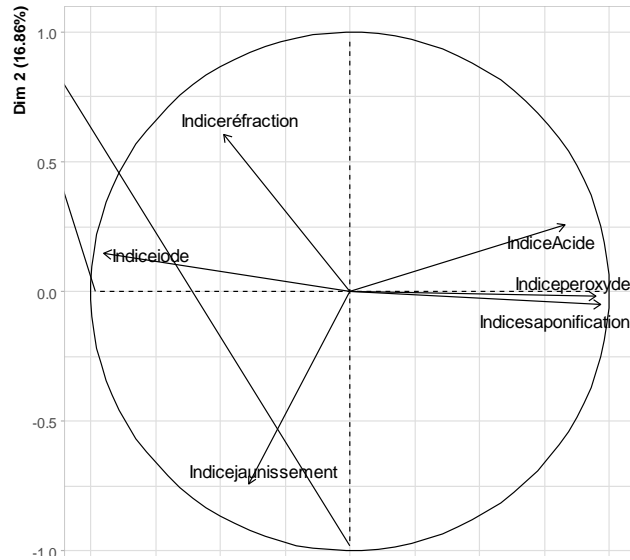


Figure 8 : Correlation between the physicochemical properties of baobab oil and the first two dimensions of the PCA.

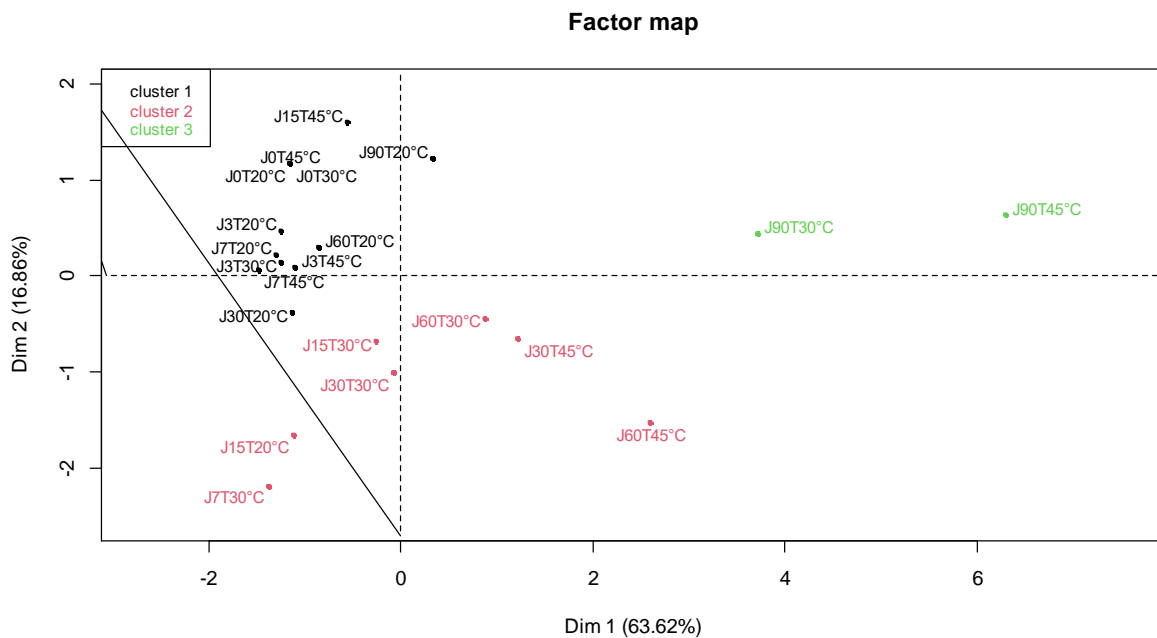


Figure 9: Projection of the different storage temperatures associated with the days of according to the physico-chemical properties of the oil extracted from baobab seeds in the baobab seeds in the factorial plane of the PCA.

1. CONCLUSION

During this study, the quality indices of different samples of baobab oil stored at 20, 30 and 45°C for three (3) months were determined. The study of the stability of baobab oil showed that the duration and conditions of storage have a significant influence on the quality of the oil. The different quality parameters studied showed different evolutions according to the storage conditions. The most important quality degradations were observed with oils stored at 45 °C. Indeed, the temperature, light, dissolved oxygen content and the presence of pro-oxidants, promote the hydrolysis and oxidation of triglycerides. This degradation of fats, leads to the formation of oxidation compounds, polymerization, isomerization and hydrolysis [24]. However, all the results obtained allow us to say that this oil is of good quality after three months of storage and that the conservation at 20 °C is more suitable than that at 30 and 45 °C.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflicts of interest regarding the publication of this paper.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors gratefully acknowledge Pierre-Gilles COMMEAT from Baobab flavors Company and Professor Hicham HARHAR from their technical assistance.

REFERENCES

- [1]A. G. Diop, M. Sakho, M. Dornier, M. Cisse, et M. Reynes. (2005) « Le baobab africain (*Adansonia digitata* L.): principales caractéristiques et utilisations », *Fruits*, 61, 55-69, <https://doi.org/10.1051/fruits:2006005>.
- [2]A. Sow, M. Cisse, N. C. Ayessou, M. Sakho, et C. M. Diop. (2018) « Le baobab (*Adansonia digitata* L.): Variabilité des graines, procédés d'extraction et propriétés physico-chimiques de l'huile ». *International Journal of Innovation and Scientific Research*, 39, 25-36.
- [3]G. E. Wickens. (1982) « The Baobab: Africa's Upside-Down Tree », *J stor Kew Bulletin*, vol. 37, n° 2, p. 173, 1982, <https://doi.org/10.2307/4109961>.
- [4]D. Sanogo, M. Badji, M. Diop, C. Samb, A. Tamba, et Y. Gassama. (2015) « Évaluation de la production en fruits de peuplements naturels de Baobab (*Adansonia digitata* L.) dans deux zones climatiques au Sénégal », *J. App. Bioscience.*, vol. 85, n° 1, p. 7838-7847, <https://doi.org/10.4314/jab.v85i1.8>.
- [5]I. Cissé. (2012) « Caractérisation des propriétés biochimiques et nutritionnelles de la pulpe de baobab des espèces endémiques de Madagascar et d'Afrique continentale en vue de leur valorisation. », Thèse, *Montpellier Supagro*, France.

- [6]A. Sow, M. Cissé, N.C. Ayessou, O.I.K. Cissé, K. Niane M. Sakho, C.M. Diop. (2018) « Optimisation de la torréfaction des tourteaux de graines de baobab (*Adansonia digitata* L.) par la méthode des surfaces de réponses ». *Journal de la Société Ouest-Africaine de chimie*, 45, 42-48.
- [7]M. Cisse, M. Sakho, M. Dornier, C. M. Diop, M. Reynes, et O. Sock. (2009) « Caractérisation du fruit du baobab et étude de sa transformation en nectar », *Fruits*, vol. 64, 19-34, <https://doi.org/10.1051/fruits/2008052>.
- [8]C. Buchmann, S. Prehler, A. Hartl, et C. R. Vogl. (2010) « The Importance of Baobab (*Adansonia digitata* L.) in Rural West African Subsistence Suggestion of a Cautionary Approach to International Market Export of Baobab Fruits », *Ecology of Food and Nutrition*, 49,145-172.<https://doi.org/10.1080/03670241003766014>.
- [9]G. P. P. Kamatou, I. Vermaak, et A. M. Viljoen.(2011) « An updated review of *Adansonia digitata*: A commercially important African tree », *South African Journal of Botany*,77, 908-919. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2011.08.010>.
- [10]A. Sow. (2019) Thèse, " Valorisation des graines de baobab (*Adansonia digitata* L) : Influence des procédés de transformation sur la qualité de l'huile de baobab." *université Cheikh Anta Diop de Dakar*, Sénégal.
- [11]I. Ben Tekaya et M. Hassouna (2005) « Étude de la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge extra tunisienne au cours de son stockage », *OCL*, 12, 447-454. <https://doi.org/10.1051/ocl.2005.0447>.
- [12] A. Aboubakar Dandjouma, C. Tchiegang, et M. Parmentier (2008) « Evolution de quelques paramètres de qualité physico-chimique de l'huile de la pulpe des fruits de *Canarium schweinfurthii* Engl. Au cours du stockage », *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 2, 249-257. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v2i3.39760>.
- [13]E. Kondratowicz et P. Lidia Ostasz. (2000) « Quality changes in edible oils at high temperature. Kinetic analysis », *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*,6 (276-281).[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1438-9312\(200004\)102](https://doi.org/10.1002/(SICI)1438-9312(200004)102)
- [14]M. Cissé, A. Sow, P. Poucheret, D. Margout, N.C Ayessou, P.G Faye, M. Sakho, C.M.G Diop. (2018). Impact of Extraction Method on Physicochemical Characteristics and Antioxidant Potential of *Adansonia digitata* Oil. *FNS*, 09 (937-955). <https://doi.org/10.4236/fns.2018.98069>
- [15]« Recueil de normes françaises AFNOR.(1993) Corps gras, graines oléagineuses, produits dérivés. *Paris, édition : 5, 1993.* » AFNOR.
- [16] E.A Coppin, et O.A Pike. (2001) Oil stability index correlated with sensory determination of oxidative stability in light-exposed soybean oil », *J Amer Oil Chem Soc*, vol. 78, (13-18). <https://doi.org/10.1007/s11746-001-0212-4>.

- [17] A. Sow, M. Cissé, G. Faye, N. C. M. Ayessou, M. Sakho, et C. Mar Diop, (2017) « Influence de l'opération de lavage des graines de baobab (*Adansonia digitata* L.) sur la qualité de l'huile », *Afrique Science*, 190-199.
- [18] C. Borchani, S. Besbes, C. Blecker, et H. Attia. (2010) « Chemical Characteristics and Oxidative Stability of Sesame Seed, Sesame Paste, and Olive Oils » *Journal of Agriculture, Science and Technology*, 12 (585-596).
- [19] D. Shao, C. Venkatasamy, X. Li, X. Pan, J. Shi. (2015) « Thermal and storage characteristics of tomato seed oil », *LWT - Food Science and Technology*, 63, 191-197. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.010>.
- [20] V. M. Aïssi, M. M. Soumanou, F. P. Tchobo, et D. Kiki. (2009) « Etude comparative de la qualité des huiles végétales alimentaires raffinées en usage au Bénin » *Bulletin d'Information de la Société Ouest-Africaine de chimie*, 6 (25-37).
- [21] Codex Alimentarius, « Norme pour les huiles végétales portant un nom spécifique ». 1999.
- [22] A.A. Oduje, A. Awode, A. Edah, I. Sagay. (2015). Characterization and Phytochemical Screening of n-Hexane Oil Extract from *Cissus aralioides* Seeds. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 6 (112-116), 112 ISSN 2229-5518.
- [23] S. T. Djenontin, J. Dangou, D. V. Wotto, K. C. D. Sohounlhoue, P. Lozano, et D. Pioch. (2006) « composition en acides gras, stérols et tocophérols de l'huile végétale non conventionnelle extraite des graines de *Jatropha curcas* (euphorbiaceae) du Bénin » *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, 22, (59-67).
- [24] P. Dansou, F. J. Ahounou, H. Ahissou, et R. Tossou. (2008) « Les indices de nature de la sauce frite «JA» et la santé du consommateur », *Sciences et Médecines*, 6, 5.

Analyse de quelques paramètres physico-chimiques la confiture à base de la pomme de cajou

Dégni Marie Bianoun Louise^{1*}, Soro Doudjo², Awa-N'Goran Zita³,

1 Dégni Marie B. L, BP : 1313 Yamoussokro, Côte d'Ivoire

2 Soro Doudjo, BP : 1313 Yamoussokro, Côte d'Ivoire

3 Awa-N'Goran Zita, BP : ,1313 Yamoussokro, Côte d'Ivoire

degnimarielouise@gmail.com

Résumé

Parmi les paramètres physico-chimiques des confitures à base de fruit, celle de la pomme de cajou reste encore méconnue. L'objectif est de caractériser les paramètres physico-chimiques de la confiture en vue de la valorisation de la pomme de cajou. Ainsi plusieurs paramètres ont été déterminés entre autre le pH, l'extrait sec soluble, l'acidité titrable, les polyphénols, les flavonoïdes, les anthocyanes, les sucres réducteurs, les sucres totaux. Les résultats montrent que la confiture de pomme de cajou a un pH de $3,6 \pm 0,00$; un degré brix de $62 \pm 0,00$ °Brix ; une acidité titrable de $0,07 \pm 0,00$. Les polyphénols, les flavonoïdes et les anthocyanes sont respectivement de $40 \pm 2,88$ mg EAQ/100g, de $38,33 \pm 2,88$ mg EAQ/100g et de $0,04 \pm 0,005$ CAT en mg/g. Les sucres réducteurs sont de $5 \pm 2,88$ % et les sucres totaux de $45 \pm 3,77$ %. En définitif, cette confiture est riche en nutriments, d'où la nécessité de sa valorisation.

Mots clés : Pomme de cajou ; physico-chimiques ; confiture.

Choice of a better pre-treatment to apply to cashew apple for the elaboration of a jam

Abstrat

Among the physico-chemical parameters of fruit-based jams, that of the cashew apple is still poorly understood. The objective is to characterise the physico-chemical parameters of the jam with a view to enhancing the value of the cashew apple. Thus, several parameters were determined, including pH, soluble dry extract, titratable acidity, polyphenols, flavonoids, anthocyanins, reducing sugars and total sugars. The results show that the cashew apple jam has a pH of 3.6 ± 0.00 ; a Brix degree of 62 ± 0.00 °Brix; a titratable acidity of 0.07 ± 0.00 . The polyphenols, flavonoids and anthocyanins are respectively 40 ± 2.88 mg ADE/100g, 38.33 ± 2.88 mg ADE/100g and 0.04 ± 0.005 CAT in mg/g. The reducing sugars are 5 ± 2.88 % and the total sugars 45 ± 3.77 %. Finally, this jam is rich in nutrients, hence the need for its valorisation.

Keywords: Cashew apple, physico-chemical, jam

1. Introduction

La Côte d'Ivoire est le leader mondial de noix de cajou avec 850 000 tonnes commercialisés au terme de l'année 2020. Le pays a même dépassé les prévisions, qui tablaient sur un volume de 800 000 tonnes. La production ne cesse d'augmenter avec une hausse de 33% par rapport à 2019, malgré les perturbations liées à la pandémie du coronavirus (**Anonyme, 2021**). La quasi-totalité de cette production est perdue sur les lieux de récolte car la pomme de cajou n'est quasiment pas exploitée industriellement en Côte d'Ivoire. (**Soro et al., 2010**). Comme pour de nombreux fruits, la principale voie de valorisation envisagée est la transformation en jus alors qu'il existe plusieurs sous-produits qui sont inexploités. Ce sont le vin, le vinaigre, la gelée de pomme de cajou et la confiture de pomme de cajou en utilisant l'osmomotique la déshydratation, ou la confiture par cuisson, la compote etc.... (**David et Prasad, 2015 ; Trakul et al 2014**). La confiture à base de pomme de cajou serait avantageuse sur le plan économique, diversité alimentaire, nutritionnelle, etc.... C'est pour mieux connaître la valeur nutritionnelle de cette confiture que notre étude à porter sur « Une analyse de quelques paramètres physico-chimiques de la confiture de la pomme de cajou ».

2. Matériel et Méthodes

➤ Matériel biologique

Les pommes de cajou utilisées proviennent de Yamoussoukro, capitale politique de la Côte d'Ivoire, située entre la zone forestière et la zone de savanicole. Elles ont été ramassées sous les arbres. Les noix seront séparées minutieusement des pommes afin d'éviter de les blesser. Ces pommes seront constituées de pommes rouges et jaunes (Figure 1). Elles sont transportées dans des paniers à l'usine école du DFR GCAA de l'INP-HB pour être transformées. Nettoyées, lavées elles sont désinfectées pendant 30 min avec 100 ppm de chlore actif dans des bacs. Elles sont ensuite rincées avec de l'eau avant d'être utilisées pour les différentes formulations.

➤ Méthodes

Le pH est déterminé par la méthode **NF V 05-108 (1970)**, le Brix est déterminé à l'aide d'un **réfractomètre**, l'acidité est déterminé par la méthode Tritimétrie **NF V05-101 (1974)**, les **polyphénols** ont été déterminé par la méthode de **Wood et al. (2002)**, les flavonoïdes ont été déterminé par la méthode de **Marinova et al. (2005)**. Les anthocyanes ont été déterminé par la méthode de **Lee et al (2005)**, les sucres totaux ont été déterminé par la méthode de **Dubois et al. (1956)** et les sucres réducteurs ont été déterminé par la méthode de **Bernfeld (1955)**

3. Résultats et Discussion

3.1 Résultats des analyses physico-chimiques

Les résultats relatifs à l'analyse physico-chimique figurent dans le **Tableau 1**

Tableau 1 : Analyse physico chimique de la confiture de la pomme de cajou

Analyse	Résultats
---------	-----------

pH	3,6
Acidité titrable	0,07± 0,00
Extrait sec soluble	62± 0,00 °Brix
Polyphénols Totaux	40 ± 2,88 mg EAQ/100g
Anthocyanes	0,04 ±0,005 CAT en mg/g
Flavonoïdes totaux	38,33 ± 2,88 mg EAQ/100g
Sucres totaux	45 ± 3,77 %
Sucres réducteurs	4 ± 2,88 %

La confiture de la pomme de cajou a un Brix de 62. Ce résultat serait conforme à la norme du **CODEX STAN 2966-2009** pour les confitures qui la teneur en matière sèche soluble entre 60 et 65% ou plus. La valeur du pH du fruit est un facteur important dans le traitement de la confiture car il est lié à la formation de gel. La valeur du pH recommandée pour la production de confitures se situe entre 2.8 et 3,5. La valeur du pH finale après cuisson de la confiture de pomme de cajou qui serait de 3,6 tournerait autour de cette valeur de et favoriserait une meilleure gélification. Les anthocyanes seraient 45 ± 3,77 %, les Polyphénols Totaux serait de 40 ± 2,88 mg EAQ/100g, supérieur aux flavonoïdes qui serait de 38,33 ± 2,88 mg EAQ/100g. Les valeurs de ces composés auraient baissé faite du procédé de cuisson qui aurait eu un impact négatif selon **Dubey et al, 2020**. Les sucres totaux et les sucres réducteurs seraient respectivement de 45 ± 3,77 % et 5 ± 2,88 %.

3.2 Suivre de quelques paramètres physico-chimiques

Les figures 1 ; 2 ; 3 et 4 montrent l'évolution de 0 à 8 ou 9 semaines de quelques paramètres physico-chimiques de la confiture de la pomme de cajou conservée à 30°C. Il s'agit des polyphénols totaux ; des Flavonoïdes ; des sucres totaux et de l'acidité. On observe une variabilité de ces paramètres au cours du temps.

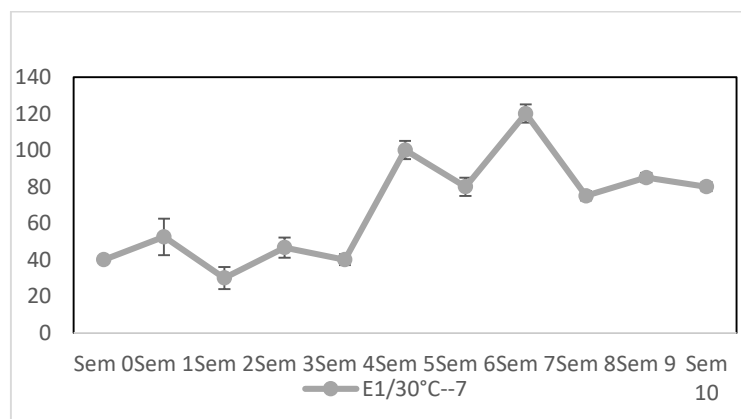


Figure 1 : Evolution des polyphénols totaux (en mg EAQ/100g de confiture)

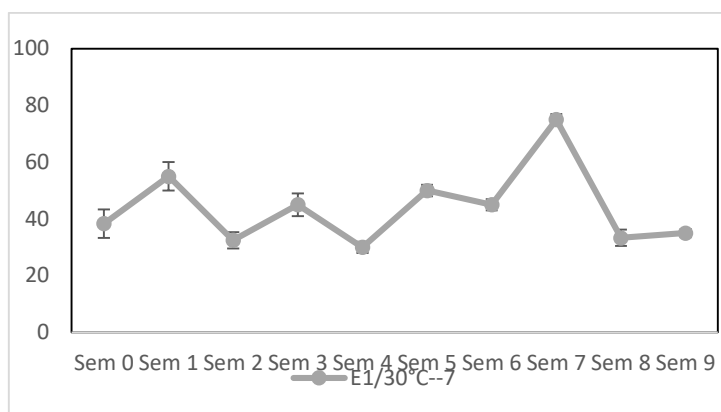


Figure 2 : Evolution des Flavonoïdes (en mg EAQ/100g de confiture)

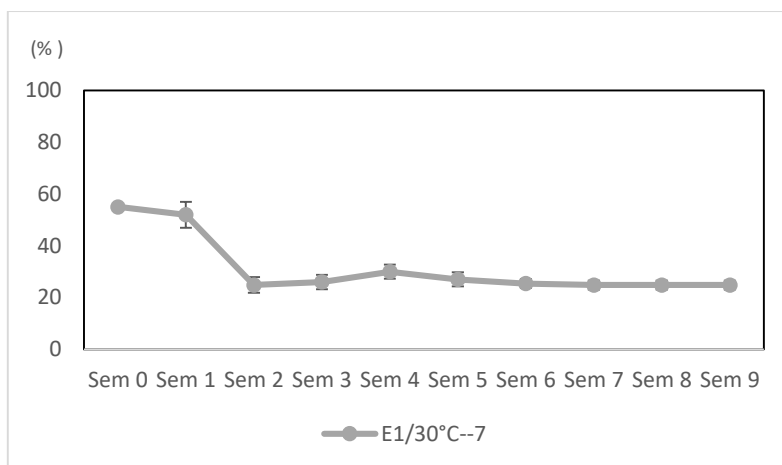


Figure 3 : Evolution des Sucres Totaux

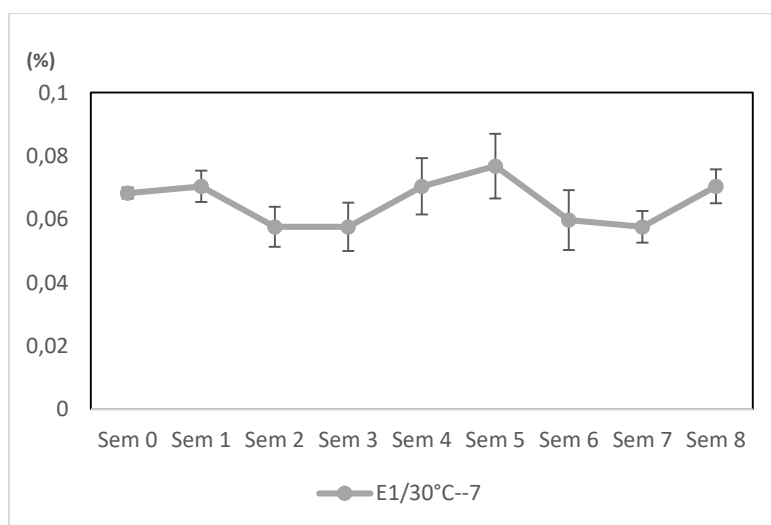
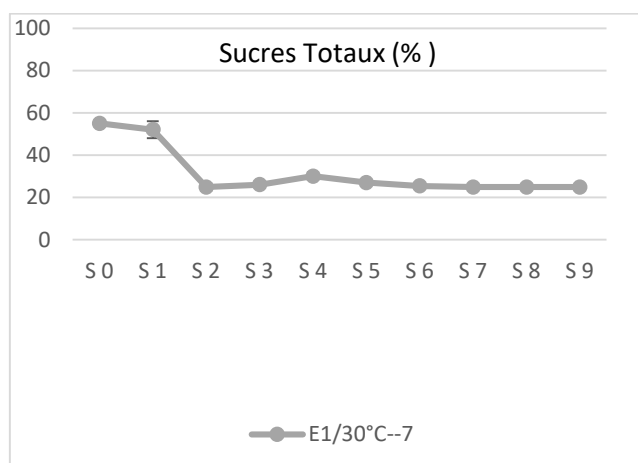


Figure 4 : Evolution de l'acidité

- 4. Conclusion :** Cette étude a montré que la confiture de la pomme de cajou comme d'autres fruits tropicaux présente de bonnes valeurs nutritionnelles de manière générale, d'où la nécessité de sa valorisation.

Références

- [1] C.T. David And S.M. Prasad (2015), Value Added Products from Cashew Apple Eds.: C. Ravindran et al.
- [2] Anonyme (2021): Forte hausse de la production de noix de cajou en Côte d'Ivoire, Rfi Afrique
- [3] D. Soro, C. Moctar, Y. K. Kone, E. N. Assidjo , B. K. Yao , And M. Dornier (2010), Valorization of cashew apple (*Anacardium occidentale*) and impact of vacuum evaporation at different temperatures in the juice quality, International Journal of Innovation and Applied Studies
- [4] Arpan Dubey, Amit Kumar, Pavuluri Srinivasa Rao (2010); Development and storage study of reduced calorie aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller) based pineapple fruit jam, Journal of Food Measurement and Characterization



STABILISATION DES JUS PAR VOIE ELECTROCHIMIQUE EXEMPLE DU JUS D’HIBISCUS SABDARIFFA L.

Khady NDIAYE¹, Cheikhou KANE², Nicolas AYEISSOU², Mady CISSE², Codou Mar DIOP²

¹ Doctorante ESP/UCAD, Laboratoire Eau Energie Environnement et Procédés Industriels, Sénégal

² Enseignants Chercheurs ESP/UCAD, Laboratoire Eau Energie Environnement et Procédés Industriels,
Sénégal

khadyameth@yahoo.fr

RESUME

Le rôle vital des anthocyanes d’*Hibiscus sabdariffa L.* est maintenant connu par la plupart des consommateurs. La richesse des anthocyanes en antioxydant, en vitamine C, en minéraux entre autres procure au jus d’Hibiscus des qualités nutritionnelles avérées. Les exigences sanitaires de ces dernières années rendent moins populaire les produits alimentaires avec ajout de conservateurs ou traités avec une température élevée, expliquant ainsi les nouvelles orientations vers des technologies innovatrices et interdisciplinaires.

Les anthocyanes d’*Hibiscus sabdariffa L.* sont cependant sensibles aux facteurs de dégradation tels que la température, la lumière, les enzymes mais aussi l’oxygène. L’instabilité des anthocyanes a longtemps été un thème de recherche étudié avec des techniques classiques comme le traitement thermique dont les résultats présentent souvent des limites liées à la dégradation rapide mais surtout à la destruction des qualités nutritionnelles et organoleptiques du produit.

L’oxygène dissout dans les jus est jusque-là traité par barbotage avec un gaz inerte ou par ajout d’autres molécules comme les conservateurs qui peuvent causer beaucoup de dommages sanitaires.

L’approche électrochimique est une nouvelle technique de stabilisation consistant à réduire l’oxygène dissous dans les jus, à froid et sans ajout d’autres molécules. L’électrolyse du jus d’Hibiscus a été réalisée par des électrodes nobles (Platine et Acier inoxydable) avec un couple Temps/Potentiel ou Temps/Intensité bien caractérisé. Les échantillons électroréduits et le témoin sont par la suite conservés à 4°C, 25°C et 37°C pendant plus de 6 mois.

Le suivi des anthocyanes le premier mois, des échantillons et du témoin, a permis de voir un écart significatif de 10% entre l’extrait électroréduit et le témoin non traité à 37°C jusque-là problématique pour le traitement thermique et même pour les autres techniques membranaires.

La réduction de l’oxygène sur électrode de platine / ECS a permis de conserver plus de 10% des anthocyanes après 4 semaines de stockage à 25°C et 37°C. A 4°C, un écart significatif de 5% entre le jus d’Hibiscus électro réduit et le témoin a été maintenu jusqu’au cinquième mois de conservation avec le ratio calice/eau 1/5.

Mots clés : Stabilisation, Oxygène, Anthocyane, Electrochimie

ELECTROCHEMICAL STABILISATION OF JUICES EXAMPLE OF HIBISCUS SABDARIFFA L. JUICE

1 ESP/UCAD PhD student, Laboratoire Eau Energie Environnement et Procédés Industriels, Senegal

2 ESP/UCAD Research Professors, Water Energy Environment and Industrial Processes Laboratory, Senegal

khadyameth@yahoo.fr

Abstract

Most consumers now know the vital role of anthocyanins in Hibiscus sabdariffa L. The richness of anthocyanins in antioxidants, vitamin C, minerals, etc. gives Hibiscus juice proven nutritional qualities. The health requirements of recent years have made food products with added preservatives or processed at high temperatures less popular, thus explaining the new orientations towards innovative and interdisciplinary technologies.

Anthocyanins from Hibiscus sabdariffa L. are, however, sensitive to degradation factors such as temperature, light, enzymes and oxygen.

The instability of anthocyanins has long been a subject of research using classic techniques such as heat treatment, the results of which often have limitations linked to rapid degradation but above all to the destruction of the nutritional and organoleptic qualities of the product.

Oxygen dissolved in juices is so far treated by bubbling with an inert gas or by adding other molecules such as preservatives, which can cause a lot of health damage.

The electrochemical approach is a new stabilisation technique that reduces the dissolved oxygen in the juice, cold and without the addition of other molecules.

Noble electrodes (Platinum and Stainless Steel) carried out the electrolysis of Hibiscus juice with a well-characterised Time/Potential or Time/Intensity couple. The electroreduced samples and the control were then stored at 4°C, 25°C and 37°C for more than 6 months.

Monitoring of anthocyanins in the first month, of the samples and the control, showed a significant difference of 10% between the electroreduced extract and the untreated control at 37°C, which had previously been problematic for the heat treatment and even for the other membrane techniques.

Oxygen reduction on the platinum electrode / ECS allowed the retention of more than 10% of anthocyanins after 4 weeks of storage at 25°C and 37°C. At 4°C, a significant difference of 5% between the electro-reduced Hibiscus juice and the control was maintained until the fifth month of storage with the 1/5 heat/water ratio.

Key words: Stabilisation, Oxygen, Anthocyanin, Electrochemistry

1. Introduction

Les multiples bienfaits des anthocyanes sont dus à leur propriété antioxydant[1-3], substance chimique retrouvée à l'intérieur de plusieurs aliments notamment ceux de l'*Hibiscus sabdariffa L.* communément appelées bissap au Sénégal, qui ont le pouvoir de neutraliser les radicaux libres qui endommagent les cellules provoquant ainsi plusieurs maladies [4, 5].

La particularité des calices d'*Hibiscus sabdariffa L.* se trouve aussi sur sa composition en minéraux notamment la vitamine C. Par leur large plage de couleur allant du rouge-orangé au bleu-violet en passant par la jaune pâle [6, 7], les anthocyanes de l'*Hibiscus sabdariffa* peuvent prévenir le cancer, réduire les risques des maladies cardiovasculaires, diminuer le risque de souffrir d'hypertension, renforcer les os et les dents, renforcer le système immunitaire, améliorer la régularité intestinale, favoriser un poids santé etc.[8-13] .

Cependant l'instabilité des anthocyanes due à sa composante le cation flavylium très réactif aux facteurs tels que la température, la lumière, le pH, les enzymes mais aussi l'oxygène entre autres fait que les jus à base d'*Hibiscus sabdariffa* se décolorent au cour de la conservation [14-20].

Les impacts de l'oxygène sur la qualité sensorielle des produits alimentaires et les réactions sous-jacentes ont été revus par plusieurs auteurs [20-22].

De ce fait, beaucoup de travaux concernant la stabilisation de ces pigments ont été réalisés.

Le traitement thermique a longtemps été utilisé par les chercheurs pour la stabilisation des produits alimentaires notamment les travaux de Mady Cissé [23, 24].

La pasteurisation et l'extraction à chaud ont souvent servi à conserver les anthocyanes d'*Hibiscus sabdariffa* comme les travaux de Alé Kane avec un barème de 70°/30minutes [25, 26].

Le traitement thermique peut permettre une certaine stabilité microbienne mais les qualités nutritionnelles du produit restent à désirer avec une perte notable de la concentration en anthocyane durant la conservation en plus du coût énergétique relativement élevé [27, 28].

Les processus thermiques restent la plus large technologie adoptée pour la préservation des jus de fruits. Cependant, la forte demande des consommateurs pour des aliments nutritifs dans la durée ont poussé les chercheurs vers les nouvelles techniques non-thermiques pour une meilleure stabilité tout en conservant les qualités organoleptiques des jus de fruits [23, 27, 29].

Par ailleurs, la copigmentation qui consiste à l'ajout de tanins comme la gomme arabique pour avoir une bonne teinte fait partie aussi des techniques récentes comme l'atteste les travaux de Papa Guedel Faye[30, 31]mais le changement des composantes de base du jus reste problématique du fait que le produit de départ soit modifié.

La réduction de l'oxygène attire une considérable attention due à ces nombreuses applications qui exigent des matériaux d'électrodes possédant simultanément de grandes activités catalytiques, une bonne conduction électrique, une grande surface spécifique et surtout une meilleure stabilité [36-39].

La réduction de l'oxygène dans les solutions est peu utilisée. Elle a été étudiée sur le fer et les aciers inoxydables en eau de mer naturelle par Nathalie LE BOZEC dans ses travaux de thèse en 2000 [40]. Le platine est un élément de référence en matière d'efficacité catalytique [41]. Cependant son application sur les produits alimentaires est rare voire inexistante à notre connaissance.

La gestion de l'oxygène dans les produits alimentaires représente une des clés pour garantir une meilleure qualité des jus pour une meilleure adéquation aux différents types de marchés et de consommateurs[21].

Dans le cas de cette étude l'utilisation de l'électrode pour la conservation des jus a été utilisée pour la première fois.

A la différence des techniques thermiques classiques et des techniques athermiques utilisées, la réduction de l'oxygène dans les jus est utilisée pour la première fois à notre connaissance pour prolonger la durée de conservation du produit. Afin de s'assurer que le jus traité garde ses propriétés organoleptiques plusieurs analyses physico chimiques seront effectuées. Cette nouvelle approche permettrait de réduire l'oxygène dissous ; ceci permettra de prolonger la durée de conservation des jus sans ajouter de stabilisant tout en gardant les qualités organoleptiques du produit.

2. Matériel et méthodes

L'essai a été réalisé à partir de calices entiers d'*Hibiscus sabdariffa* L. Nous avons effectué un mélange calices/eau avec le ratio 1/15 (kg/kg), la macération a été effectuée à température ambiante avec de l'eau distillée pendant environ 4h et le mélange a été filtré.

Les mesures électrochimiques réalisées au cours de ce travail font appel à un montage potentiostatique à trois électrodes. Il comprend une électrode de travail en platine, siège des réactions électrochimiques étudiées, une électrode auxiliaire en acier inoxydable qui ferme le circuit électrique et une électrode de référence au calomel saturé, qui permet de contrôler et mesurer à chaque instant le potentiel de l'électrode de travail. Le système utilisé est un potentiostat relié à un ordinateur muni du logiciel de voltampérométrie cyclique. La cellule électrochimique est une cellule d'électrolyse en plexiglas à deux compartiments séparés par une membrane cationique de type nafion.

3. Résultats et discussion

3.1. Caractérisation Electrochimique

En vue de détecter la présence d'éléments électroactifs dans l'extrait d'*Hibiscus sabdariffa*, nous avons fait la voltampérométrie cyclique. Le premier résultat obtenu est présenté sur la figure suivante.

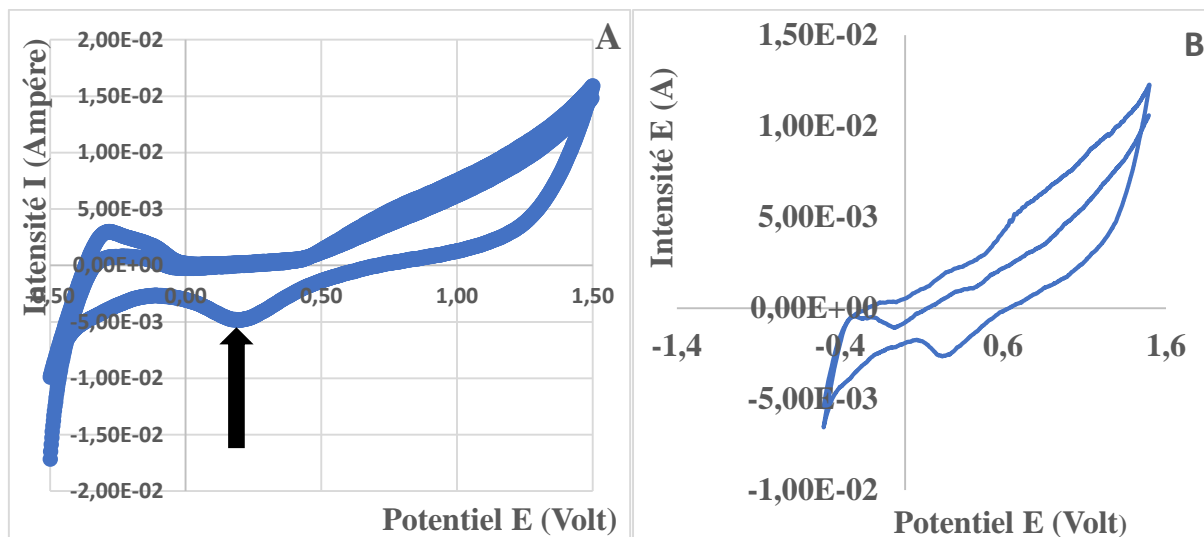


Figure1 : A-Voltammogramme de l'extrait d'*Hibiscus sabdariffa* avant traitement

B-Voltammogramme de l'extrait d'*Hibiscus sabdariffa* après traitement électrochimique

Les résultats de l'électrolyse montrent un pic de réduction à -5mA pour le jus non traité et un pic à -2 mA pour le jus de bissap après traitement électrochimique.

En effet, le traitement par chronopotentiométrie consistant à appliquer l'intensité du courant de pic (pendant une durée bien déterminée) obtenue après voltampérométrie cyclique de l'extrait en fonction du temps $I=f(t)$ a permis de montrer que l'élément électroactif (oxygène dissous) a été réduit.

3.2. Suivi de la couleur

La couleur de l'extrait traité électrochimiquement avec un couple potentiel du pic de réduction/temps de traitement et de l'extrait non traité (témoin) a été aussi suivie après stockage de quelques mois à 4°C, 25°C et 37°C.

La coordonnée colorimétrique correspondante à la composante rouge/vert (a^*) seulement est présentée.

Les résultats obtenus sont consignés sur le tableau suivant :

		Composante Rouge/Vert a^*	
		1mois	6mois
4°C	Echantillon	50,09 ^a	48,63 ^b
	Témoin	49,39 ^b	47,53 ^c
37°C	Echantillon	48,56 ^a	45,36 ^c
	Témoin	47,96 ^b	44,18 ^d

La composante de couleur rouge du jus électro réduit est différente significativement au témoin à 4°C et 37°C après 1 mois et 6 mois de stockage. Le jus dont l'oxygène a été réduit électrochimiquement

(Echantillon) conserve mieux sa couleur rouge comparativement au jus de bissap non électroréduit (Témoin).

4. Conclusion

Dans cette étude il a été clairement démontré que la réduction de l'oxygène sur une électrode de platine du jus d'*Hibiscus sabdariffa L* permet d'améliorer considérablement la durée de conservation de ces jus comparativement aux travaux menés jusque-là. Le suivi de la couleur a permis de voir clairement que l'approche électrochimique contribue à mieux conserver les anthocyanes.

Le traitement électrochimique contribue en matière de sécurité alimentaire en conservant les qualités nutritionnelles et organoleptiques des jus sans additifs, ni copigmentation encore moins de traitement thermique, à 25 et 37°C pendant plus de 6 mois de stockage.

5. Bibliographie :

- [1] M. Cisse, M. Dornier, M. Sakho, A. Ndiaye, M. Reynes, and O. Sock, "Le bissap (*Hibiscus sabdariffa L.*): composition et principales utilisations," *Fruits*, vol. 64, no. 3, pp. 179-193, 2009.
- [2] C. E. Ochoa-Velasco, C. Salazar-Gonzalez, S. Cid-Ortega, and J. A. Guerrero-Beltran, "Antioxidant characteristics of extracts of *Hibiscus sabdariffa* calyces encapsulated with mesquite gum," (in eng), *J Food Sci Technol*, vol. 54, no. 7, pp. 1747-1756, Jun 2017.
- [3] J. Wang, X. Cao, H. Jiang, Y. Qi, K. L. Chin, and Y. Yue, "Antioxidant activity of leaf extracts from different *Hibiscus sabdariffa* accessions and simultaneous determination five major antioxidant compounds by LC-Q-TOF-MS," (in eng), *Molecules*, Research Support, Non-U.S. Gov't Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S. vol. 19, no. 12, pp. 21226-38, Dec 17 2014.
- [4] R. S. K. PURO*, S. SAMIR, S. GHATAK, I. SHAKUNTALA, A. SEN, "Medicinal Uses of Roselle Plant (*Hibiscus sabdariffa L.*): A Mini Review," (in English), *Indian Journal of Hill Farming* vol. Volume 27, no. Issue 1, p. 5, June 2014.
- [5] D. B.-R. Monique Gardès-Albert, Zohreh Abedinzadeh and e. D. Jore, "Espèces réactives de l'oxygène," (in french), *l'actualité chimique*, p. 6, novembre-décembre 2003.
- [6] G. B. C. Chen Tan, Alireza Abbaspourrad*, "Copigment-polyelectrolyte complexes (PECs) composite systems for anthocyanin stabilization," (in English), *ELSEVIER*, vol. 81, no. Food Hydrocolloids, p. 9, 7 March 2018.
- [7] N. J. ELIZONDO, "Impact des opérations thermiques agroalimentaires à hautes températures sur la dégradation des anthocyanes : Caractérisation et modélisation des cinétiques réactionnelles," PhD thesis, Formation doctorale : Génie des procédés École doctorale :

- Sciences des Procédés – Sciences des Aliments, MONTPELLIER SUPAGRO Institut des régions chaudes, 2011.
- [8] E. M. Abdallah, "Antibacterial efficiency of the Sudanese Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.), a famous beverage from Sudanese folk medicine," (in eng), *J Intercult Ethnopharmacol*, vol. 5, no. 2, pp. 186-90, Mar-Apr 2016.
- [9] Ana Fernandes, Marisa A.A. Rochab, Luis M.N.B.F. Santosb, Joana Brása, Joana Oliveiraa, Nuno Mateusa, Victor de Freitas, "Blackberry anthocyanins: β -Cyclodextrin fortification for thermal and gastrointestinal stabilization," (in English), *ELSEVIER*, vol. 245, no. Food Chemistry, p. 6, 2018.
- [10] E. Bakhtiari, A. Hosseini, and S. H. Mousavi, "Protective effect of *Hibiscus sabdariffa* against serum/glucose deprivation-induced PC12 cells injury," (in eng), *Avicenna J Phytomed*, vol. 5, no. 3, pp. 231-7, May-Jun 2015.
- [11] I. Da-Costa-Rocha, B. Bonnlaender, H. Sievers, I. Pischel, and M. Heinrich, "*Hibiscus sabdariffa* L. - a phytochemical and pharmacological review," (in eng), *Food Chem, Review* vol. 165, pp. 424-43, Dec 15 2014.
- [12] A. Malacrida, D. Maggioni, A. Casseti, G. Nicolini, G. Cavaletti, and M. Miloso, "Antitumoral Effect of *Hibiscus sabdariffa* on Human Squamous Cell Carcinoma and Multiple Myeloma Cells," (in eng), *Nutr Cancer, Comparative Study Research Support, Non-U.S. Gov't* vol. 68, no. 7, pp. 1161-70, Oct 2016.
- [13] E. Morales-Luna, I. F. Perez-Ramirez, L. M. Salgado, E. Castano-Tostado, C. A. Gomez-Aldapa, and R. Reynoso-Camacho, "The main beneficial effect of roselle (*Hibiscus sabdariffa*) on obesity is not only related to its anthocyanin content," (in eng), *J Sci Food Agric*, Jun 26 2018.
- [14] I. Ifie *et al.*, "The effect of ageing temperature on the physicochemical properties, phytochemical profile and alpha-glucosidase inhibition of *Hibiscus sabdariffa* (roselle) wine," (in eng), *Food Chem*, vol. 267, pp. 263-270, Nov 30 2018.
- [15] I. Ifie, B. E. Ifie, D. O. Ibitoye, L. J. Marshall, and G. Williamson, "Seasonal variation in *Hibiscus sabdariffa* (Roselle) calyx phytochemical profile, soluble solids and alpha-glucosidase inhibition," (in eng), *Food Chem*, vol. 261, pp. 164-168, Sep 30 2018.
- [16] L. C.-Z. L. Fernando Reyes, "Degradation kinetics and colour of anthocyanins in aqueous extracts of purple- and red-flesh potatoes (*Solanum tuberosum* L.)," *ELSEVIER*, p. 10, 2005.
- [17] F. V. MADY CISSE, ‡ OSCAR ACOSTA,§ CLAUDIE DHUIQUE-MAYER,‡ AND MANUEL DORNIER*,‡, "Thermal Degradation Kinetics of Anthocyanins from Blood Orange,

- Blackberry, and Roselle Using the Arrhenius, Eyring, and Ball Models," (in French), *AGRICULTURAL AND FOOD CHEMISTRY*, vol. 6285, no. 57, p. 7, June 22 2009.
- [18] P. Ngom, "Essai de stabilisation de la couleur rouge de la boisson de bissap (*Hibiscus sabdariffa* L.)," Thèse de doctorat du 3^{ème} cycle, Université Cheikh Anta Diop, 2001.
- [19] k. NIANE, "ETUDE DE LA STABILITE DES CALICES ET EXTRAITS CONCENTRES DU BISSAP (*HIBISCUS SABDARIFFA* L.)," Ecole Supérieure Polytechnique, Université Cheikh Anta Diop de Dakar 2012.
- [20] A. Sinela, N. Rawat, C. Mertz, N. Achir, H. Fulcrand, and M. Dornier, "Anthocyanins degradation during storage of *Hibiscus sabdariffa* extract and evolution of its degradation products," (in eng), *Food Chem*, vol. 214, pp. 234-241, Jan 1 2017.
- [21] L. Pechamat, "Impacts de l'oxygène sur les évolutions chimiques et sensorielles du vin rouge," 2014.
- [22] M. A. Monteiro De Araujo Silva, "Effect of closures on the evolution of the sensorial quality of wine," 2011.
- [23] F. Weber and L. R. Larsen, "Influence of fruit juice processing on anthocyanin stability," *Food Research International*, vol. 100, pp. 354-365, 2017.
- [24] M. Cissé, P. Bohuon, F. Sambe, C. Kane, M. Sakho, and M. Dornier, "Aqueous extraction of anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa*: Experimental kinetics and modeling," *Journal of Food Engineering*, vol. 109, no. 1, pp. 16-21, 2012.
- [25] M. CISSE, "COUPLAGE DE PROCÉDÉS MEMBRANAIRES POUR LA PRODUCTION D'EXTRAITS ANTHOCYANIQUES : APPLICATION À L'HIBISCUS SABDARIFFA," pHD-Thesis, École doctorale : Sciences des Procédés – Sciences des Aliments, MONTPELLIER SUPAGRO
CENTRE INTERNATIONAL D'ÉTUDES SUPÉRIEURES EN SCIENCES AGRONOMIQUES,
2010.
- [26] "<Mémoire Master ALE KANE [11] .pdf>."
- [27] M. Cisse, "Couplage de procédés membranaires pour la production d'extraits anthocyaniques: application à# *Hibiscus sabdariffa*," 2010.
- [28] M. Cisse, F. Vaillant, O. Acosta, C. Dhuique-Mayer, and M. Dornier, "Thermal degradation kinetics of anthocyanins from blood orange, blackberry, and roselle using the arrhenius, eyring, and ball models," *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 57, no. 14, pp. 6285-6291, 2009.

- [29] B. Tiwari, C. O'donnell, and P. Cullen, "Effect of non thermal processing technologies on the anthocyanin content of fruit juices," *Trends in Food Science & Technology*, vol. 20, no. 3-4, pp. 137-145, 2009.
- [30] P. G. FAYE, M. CISSE, N. AYEISSOU, M. SAKHO, and C. M. DIOP, "Effet de la gomme arabique et des tanins du tamarin sur la stabilité des anthocyanes de sirop d'Hibiscus sabdariffa L.," *Afrique SCIENCE*, vol. 12, no. 5, pp. 51-58, 2016.
- [31] C. Tan, G. B. Celli, and A. Abbaspourrad, "Copigment-polyelectrolyte complexes (PECs) composite systems for anthocyanin stabilization," *Food Hydrocolloids*, vol. 81, pp. 371-379, 2018.
- [32] A. F. Adje, Y. Houphouët-Boigny, Y. Lozano, and H. M. Biego Godi, "Couplage de technologies membranaires pour la production d'extraits stables de bissap (# Hibiscus sabdariffa# L., Malvaceae)," 2015.
- [33] M. Cissé *et al.*, "Athermal concentration by osmotic evaporation of roselle extract, apple and grape juices and impact on quality," *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, vol. 12, no. 3, pp. 352-360, 2011.
- [34] M. Cisse, F. Vaillant, D. Soro, M. Reynes, and M. Dornier, "Crossflow microfiltration for the cold stabilization of roselle (Hibiscus sabdariffa L.) extract," *Journal of food engineering*, vol. 106, no. 1, pp. 20-27, 2011.
- [35] C. Bhattacharjee, V. Saxena, and S. Dutta, "Fruit juice processing using membrane technology: A review," *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, vol. 43, pp. 136-153, 2017.
- [36] N. Idiri, "Elaboration d'électrodes modifiées à base des nonoparticules NiO₃Co₂O₄ dans une matrice de polypyrrole. Application en électrochimie," UMMTO, 2011.
- [37] G. Gotti, "Modification de surfaces électrochimiques par des nanoparticules d'or pour la détection de molécules impliquées dans le stress oxydant," Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier, 2013.
- [38] N. Le Bozec, "Réaction de réduction de l'oxygène sur les aciers inoxydables en eau de mer naturelle. Influence du biofilm sur les processus de corrosion," Brest, 2000.
- [39] H. De Paz, "Étude spectroélectrochimique de la réaction de réduction de l'oxygène sur une électrode de carbone modifiée avec une porphyrine de cobalt (CoTPP)," 2010.
- [40] N. L. BOZEC, "Réaction de réduction de l'oxygène sur les aciers inoxydables en eau de mer naturelle. Influence du biofilm sur les processus de corrosion.," PhD thesis, Université de Bretagne Occidentale, 2000.

Conversion des grains de riz avariés à la valorisation en bioéthanol

Gnimdou Issanga ABLI^{1,2*} ; Kosi Mawuéna NOVIDZRO^{1,2} ; Sassou MEGNASSAN^{1,3} ; Kossi Honoré KOUMAGLO¹

¹Laboratoire de Génie des Procédés et des Ressources Naturelles (LAGEPREN) ; 01 BP 1515, Université de Lomé -Togo

²Département de Chimie, Faculté des Sciences ; 01 BP 1515, Université de Lomé-Togo

³Département de Chimie, Faculté des Sciences et Techniques (FaST) ; BP 404, Université de Kara-Togo

*Auteur correspondant : ABLI Gnimdou Issanga ; Courriel : abli.gnimdou@gmail.com

Groupe thématique : GT3 (ReSAOA) : Sciences Agroalimentaires Ouest-Africain

Résumé :

Pour limiter les effets pervers du réchauffement climatique, les biocarburants constituent des alternatives crédibles en remplacement aux carburants fossiles dont la combustion est aussi source de pollution environnementale. Le présent travail vise à s'impliquer dans la lutte contre les émissions du CO₂ dans l'air par production à base de grains de riz avariés, du bioéthanol capable de remplacer l'essence, le carburant le plus consommé dans les domaines du transport.

Après broyage des grains, la farine obtenue a été hydrolysée à chaud avec H₂SO₄ concentré à différentes concentrations. Les hydrolysats ont été fermentés en mode Batch grâce par la levure « *Saccharomyces cerevisiae* ». La fermentation éthanolique a été contrôlée par mesure réfractométrique. Après transfert, de matière, le taux d'éthanol dans les échantillons a été mesuré par la méthode pycnométrique.

Les résultats montrent que 8% de H₂SO₄ a permis d'obtenir l'hydrolysate dont la fermentation a fourni le meilleur taux en éthanol, soit 10,76 ± 0,29% vol., correspondant au rendement maximal de 107,57 ± 2,86 g EtOH/kg de farine sèche.

En définitive, la production bioéthanol avec des grains du riz avariés est réalisable ; mais il reste encore à améliorer certaines étapes du processus, comme celle d'hydrolyse, pour qu'il soit plus rentable.

Mots-clés : Riz avarié, hydrolyse acide, bioénergie, réchauffement climatique

Conversion of spoiled rice grains to bioethanol

Abstract:

To limit the negative effects of global warming, biofuels are credible alternatives to fossil fuels whose combustion is also a source of environmental pollution. The present work aims at getting involved in the fight against CO₂ emissions into the air by producing bioethanol from spoiled rice grains, capable of replacing petrol, the most consumed fuel in the transport sector.

After grinding the grains, the resulting flour was hydrolysed under heat with concentrated H₂SO₄ at different concentrations. The hydrolysates were fermented in batch mode using the yeast « *Saccharomyces cerevisiae* ». Ethanolic fermentation was controlled by refractometric measurement. After material transfer, the ethanol content of the samples was measured by the pycnometric method.

The results show that 8% H₂SO₄ gave the hydrolysate with the highest ethanol content during fermentation, i.e. 10.76 ± 0.29% vol. corresponding to the maximum yield of 107.57 ± 2.86 g EtOH/kg dry flour.

In the end, bioethanol production with spoiled rice grains is feasible, but some steps in the process still need to be improved, such as hydrolysis, still need to be improved to make it profitable.

Keywords: Spoiled rice, Global warming, bioenergy, acid hydrolysis

I. Introduction

Les énergies fossiles constituent jusqu'à présent la source d'énergie la plus exploitée par la plupart des pays du monde entier. Cette dépendance aux énergies fossiles provoque de véritables problèmes économiques, très complexes pour beaucoup de pays. Outre les conséquences économiques, la consommation des énergies fossiles conduit en plus à de graves crises environnementales à cause du rejet excessif du CO₂ dans l'atmosphère. Il devient dès lors urgent de chercher des voies et moyens pour limiter les effets néfastes liés à la consommation des énergies fossiles afin de préserver notre environnement. Dans ce contexte, l'emploi des déchets de riz pour la promotion de production du bioéthanol dans la filière de bioénergie retient notre attention.

II. Matériel et méthodes

Les différentes expérimentations relatives à cette étude ont été réalisées sur le plateau technique du Laboratoire de Génie des Procédés et des Ressources Naturelles (LAGEPREN), situé à la Faculté Des Sciences (FDS) de l'Université de Lomé-Togo. Les grains de riz avarié, récupérés à l'issue de leur piétinement aux abords des moulins et devenus impropres à la consommation humaine, ont été collectés dans des sacs en plastique chez les meuniers.

Après la récupération, les déchets de riz ont été broyés au moulin. Les farines obtenues ont été mélangée avec de l'eau acidifiée par H₂SO₄ à des concentrations de : 0% ; 1% ; 2% ; 4% ; 6% ; 8% et 10 % (m/m) par rapport à la masse des poudres sèches. Le mélange acide de 500 ml, contenant 100 g de farine de déchet de riz en poudre et de l'eau déminéralisée, été porté à l'ébullition pendant 2h afin d'hydrolyser les polysaccharides qu'il contient en substrats fermentescibles sous forme de sirops. La réaction de fermentation éthanolique des sirops a été réalisée en mode Batch ou discontinu avec la levure de boulangerie *Saccharomyces cerevisiae*.

La fermentation a été contrôlée en suivant la variation du degré Brix des moûts à l'aide du réfractomètre Abbe de marque AZZOTA. Les mesures ont été effectuées après chaque 24 heures.

Après la fermentation, le bioéthanol produit a été purifié par distillation fractionnée à l'aide d'une colonne de Vigreux et de le degré alcoolique mesuré grâce à la méthode pycnométrique selon les recommandation de l'AOAC.

Calcul des rendements expérimentaux de production du bioéthanol

Les rendements expérimentaux (R_{EXP}) de production du bioéthanol avec le sucrose ont été calculés à l'aide la *formule 1*.

$$R_{EXP} = \frac{m_{exp}}{m_{thé}} \times 100 \quad (\text{Formule 1})$$

Avec : m_{exp} = masse expérimentale d'éthanol (en g) et $m_{thé}$ = masse théorique d'éthanol.

Masse d'éthanol produit après fermentation

Afin de déterminer le rendement des réactions de fermentations réalisées dans cette étude, la masse expérimentale d'éthanol produit a été calculée à partir de la *formule 2*.

$$m_{exp} = \rho_{eth} \times \frac{D}{100} \times V_{moût} \quad (\text{Formule 2})$$

Avec : m_{exp} = masse expérimentale d'éthanol (g) ; ρ_{eth} =masse volumique de l'éthanol (g/mL) ; **D** : degré alcoolique du moût (% vol.) et $V_{moût}$: volume du moût (mL).

III. Résultats et discussion

Les résultats obtenus en vue d'optimiser la réaction d'hydrolyse acide des grains de riz avarié montrent qu'avec un taux de H_2SO_4 nul ou avec un taux de H_2SO_4 non nul mais sans chauffage, la réaction d'hydrolyse des grains de riz avarié n'a pas pu avoir lieu, puisque le chauffage de la solution de poudre des grains de riz avarié a conduit à l'obtention d'une pâte solide qui est une substance non fermentescible pour la production du bioéthanol. Cependant avec l'application d'un taux de H_2SO_4 compris entre 1-10%, l'hydrolyse à chaud de la solution de farine des grains de riz avarié a fourni des sirops avec des concentrations variant entre $15,25 \pm 0,25$ - $18,50 \pm 0,00^\circ$ Brix.

L'analyse de l'évolution de la cinétique de fermentation des différents hydrolysats montre que l'optimum du taux de H_2SO_4 appliqué pour la saccharification acide des grains de riz avarié est de 8%. Toutefois, la fermentation des hydrolysats des grains de riz avarié obtenus en appliquant un taux de H_2SO_4 de 8% et celui de 10% ont présenté des résultats presque similaires.

La mauvaise performance de la fermentation éthanolique observée au niveau des moûts obtenus par hydrolyse à partir des grains de riz avarié avec des taux d'acides plus faibles que 8%, serait alors due au fait que les hydrolysats correspondants contiendraient moins de composés fermentescibles à cause d'une quantité insuffisante d'acide sulfurique ou d'un temps d'hydrolyse ou de chauffage relativement court.

À l'issue de la fermentation des sirops sucrés, la fermentation des moûts éteints a permis d'obtenir des taux en éthanol (% vol.) compris entre $1,29 \pm 0,37$ - $10,76 \pm 0,29$.

L'analyse de ces résultats montre que les degrés alcooliques des différents distillats dépendent du type d'hydrolyse acide qui avait été réalisé. Le taux d'éthanol le plus élevé a été obtenu pour les solutions de farine de grains de riz avariés acidifié avec un taux de 8% de H_2SO_4 .

Les rendements de production d'éthanol pour 100 g de grains secs de riz avarié sont contenus dans la fourchette $1,28 \pm 0,37$ g- $10,76 \pm 0,29$ g. Ce qui correspond à un équivalent de $12,81 \pm 3,65$ g EtOH/kg - $107,57 \pm 2,86$ g EtOH/kg de grains secs de riz avarié. Par rapport au rendement de Gay-Lussac qui stipule qu'à partir de 100 g d'amidon on obtient 56,79 g d'éthanol, les valeurs expérimentales trouvées dans la présente étude pour le rendement de production de bioéthanol, en considérant que la teneur en amidon des grains de riz avarié serait comprise entre 77-89% (Juliano et Bechtel, 1985), sont contenues dans l'intervalle $2,53 \pm 0,72\%$ - $24,60 \pm 0,66\%$.

Dans l'ensemble, le taux de H_2SO_4 égal à 8% appliqué lors de la saccharification a permis d'obtenir alors le meilleur rendement en éthanol qui est de $107,57 \pm 2,86$ g EtOH/100 g de grains secs de riz avarié, soit un équivalent par rapport au rendement de Gay-Lussac compris entre $21,28 \pm 0,57\%$ - $24,60 \pm 0,66\%$.

Les faibles rendements obtenus dans la présente étude pourraient être dû au fait que la réaction d'hydrolyse de l'amidon ne soit pas totale occasionnant ainsi la formation de sucres non assimilables par les levures tels que les dextrines ou encore à cause des réactions de réversion de sucre conduisant à une repolymérisation en polysaccharides (Ogier et al., 1999). Les levures elles-mêmes pourraient être la cause. Elles n'arrivent pas à assimiler les sucres libérés lors de l'hydrolyse de l'amidon. En effet, les hydrolysats obtenus par saccharification acide sont difficiles à fermenter pour les levures. Ceci pourrait s'expliquer par la sensibilité particulière des levures vis-à-vis des composés inhibiteurs formés en grande proportion au cours de l'hydrolyse acide, tels que : le furfural, l'hydroxyméthylfurfural et l'acide acétique, pour ne citer que ceux-là (Shah et al., 1984).

IV. Conclusion

Le présent travail avait pour objectif général de contribuer à la lutte contre le réchauffement climatique par la valorisation en bioéthanol des déchets de riz. Une solution de farine de grains de riz avarié acidifié avec un taux de 8% de H_2SO_4 a permis d'obtenir le meilleur taux de production d'éthanol. En dessous et au-delà de ce taux d'acide, l'activité fermentaire des levures est confrontée au phénomène d'inhibition. Afin d'améliorer les résultats de cette étude, en plus du prétraitement mécanique d'autres prétraitements (physique, chimique ou biologique) peuvent être appliqués.

V. Références bibliographiques :

1. Ballerini, D., et Alazard-Toux, N. (2006). *Les biocarburants : État des lieux, perspectives et enjeux du développement*. Éditions Technip.
2. Juliano, B. et Bechtel, D. B. (1985). The grain and its gross composition. in. *Rice: Chemistry and Technology*, 17-57.
3. Novidzro, K. M., Melila, M., Fagla, B. A., Dotse, K. et Koumaglo, K. H. (2019). Potentialities of bio-based ethanol production with tuberous roots of *Icacina senegalensis* in comparison with tubers of *Manihot esculenta* and *Ipomea batatas*. *International Journal of Chemical Studies*, 7(6), 784-794.
4. Ogier, J. C., Leygue, J. P., Ballerini, D., Pourquie, J. et Rigal, L. (1999). Production d'éthanol à partir de biomasse lignocellulosique. *Oil & Gas Science and Technology*, 54(1), 67-94. 10.2516/ogst:1999004
5. Shah, R. B., Clausen, E. C. et Gaddy, J. L. (1984). Production of chemical feedstocks from biomass. *CEP Newsl.; (United States)*, 80:1. <https://www.osti.gov/biblio/5889167-production-chemical-feedstocks-from-biomass>
6. Smith, M. R. et Myers, S. S. (2018). Impact of anthropogenic CO₂ emissions on global human nutrition. *Nature Climate Change*, 8(9), 834-839. 10.1038/s41558-018-0253-3
7. Takano, M. et Hoshino, K. (2018). Bioethanol production from rice straw by simultaneous saccharification and fermentation with statistical optimized cellulase cocktail and fermenting fungus. *Bioresources and Bioprocessing*, 5(1), 16. 10.1186/s40643-018-0203-y

Infusions et micronutriments pour le renforcement de l'immunité dans la lutte contre la pandémie à COVID 19

FAYE Mamadou^{1,2}, AYEISSOU Nicolas^{1,2}, CISSE Oumar Ibn Khatab^{1,2}, SAMBOU Vincent^{1,2}

¹ Laboratoire Eau, Energie, Environnement et Procédés Industriels (LE3PI), Ecole Supérieure Polytechnique (ESP), Dakar-Fann, Sénégal

² Université Cheikh Anta Diop de Dakar (UCAD) B.P. 5085 Dakar-Fann, Sénégal

* **Corresponding** author **E-mail:** fayeespgc@gmail.com **Tel:** (+221) 77 795 19 82

Résumé

L'étude de caractérisation des éléments essentiels (macroéléments et microéléments) est basée sur une application de méthodes analytiques en spectroscopie de fluorescence X déjà existantes et sur le développement de nouvelles procédures qui peuvent être utilisées pour déterminer les teneurs en métaux lourds dans l'environnement. Pour cela, cette étude a été réalisée sur la base d'une analyse élémentaire par fluorescence X à dispersion d'énergie. Ainsi, différents types d'échantillons de thé (produits locaux) ont été analysés.

La variabilité de la composition élémentaire des différents échantillons de thé s'explique par le fait que différents facteurs sont mis en jeu incluant la différence de variété des échantillons de thé, la caractéristique du sol où les cultures ont été produites et les conditions climatiques. La liste des éléments déterminés renferme les éléments macro, micro dans les échantillons de thé.

Finalement, l'analyse par regroupement hiérarchique a été conduite pour classer les échantillons déjà utilisés dans l'ACP. Cette structure de classification de ces échantillons de thé, basée sur une composition chimique élémentaire, a été obtenue sur la base de l'outil d'analyses statistique (*Application STATISTICA*) à savoir l'analyse par composant principal (ACP) et la classification ascendante hiérarchique (CAH).

Mots-Clés : Fluorescence X, échantillons de thé, infusion, analyse par composant principal (ACP), classification ascendante hiérarchique (CAH)

1-Introduction

Le thé est l'une des boissons les plus populaires qui est originaire de la Chine. Outre son rôle important en tant que boisson populaire, le thé a acquis beaucoup d'attention en raison du nombre élevé de rapports sur ses effets bénéfiques pour la santé, y compris les propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et anti-cancérogènes. Cependant, la présence de substances toxiques comme les éléments traces métalliques fait de cette boisson une source d'intoxication.

Le présent article est consacré à la caractérisation et à l'analyse qualitative et quantitative de la composition en éléments chimiques d'échantillons environnementaux. Pour la caractérisation et

L'analyse de ces échantillons, nous avons utilisé une méthode analytique de la technique de fluorescence X à dispersion d'énergie. Pour les différents échantillons biologiques, notre étude a porté sur des produits agroalimentaires comme des feuilles de différents types de thé qui nous proviennent de notre environnement écologique très consommés au Sénégal. En effet, des variétés de plantes d'*Hibiscus sabdariffa* (Bissap), de *Guiera senegalensis* (Nguer), de *Combretum micranthum* (Kinkéliba), de *Moringa oleifera* (Moringa), de *Graviola* (Corossol) ainsi que des mélanges de feuilles de plante : **Mélange 1** (Bissap anis étoile feuille de menthe gingembre), **Mélange 2** (Thé noir poudre d'orange feuille de menthe feuille de moringa feuille de kinkeliba), **Mélange 3** (Thé vert feuille de nguer clou de giraffe feuille d'eucalyptus feuille de menthe baie de selim) et **Mélange 4** (Thym citronnelle feuille de laurier feuille de corossol) ont été analysés.

Le seul fait de connaître les propriétés physiologiques et botaniques telles que la saveur, la texture, l'odeur et la couleur visuelle ne suffisent pas pour classer des échantillons agroalimentaires comme le thé par exemple. C'est ainsi que pour une meilleure caractérisation et d'analyse élémentaire des échantillons, plusieurs techniques analytiques sont utilisées. Il s'agit des techniques de spectroscopie de masse couplée à une torche de plasma (ICP-MS). Ces techniques ont été utilisées surtout dans les études de différenciation de thé de diverses origines (**Chen et al., 2009**). D'autres techniques similaires ont été aussi utilisées telles que la chromatographie en phase liquide dans le proche infrarouge (**Chen et al., 2009**) ainsi que la spectroscopie infrarouge (**Chen et al., 2007**). Ces différentes techniques énumérées ci-dessus sont lentes et elles demandent des phases très longues de préparation chimique des échantillons avec l'utilisation de beaucoup de consommables. Cependant la plupart des techniques décrites ci-dessus nécessitent une préparation des échantillons avec des possibilités d'erreurs non négligeables.

Dans d'autres études antérieures, les techniques de caractérisations et d'analyses d'échantillons par la technique de fluorescence X ont été explorées, pour déterminer l'impact de l'environnement de culture sur la composition élémentaire des échantillons de thé et d'*Artémisia Annu*, de même que des techniques de fluorescence X combinées avec des méthodes statistiques (**Budínová et al., 1998**). Les méthodes statistiques les plus utilisées pour classer des variétés d'échantillon sont l'analyse par composant principal (ACP) et l'analyse de la variance (ANNOVA).

Dans le cadre de cette étude, pour éviter les problèmes de cout, de longue préparation des échantillons et d'erreurs dues à des contaminations, nous avons utilisé la spectroscopie de fluorescence X couplée avec des méthodes statistiques pour analyser des éléments mineurs, majeurs dans des échantillons agroalimentaires.

À cet effet, dans ce travail la technique de fluorescence X utilisée est celle de la fluorescence X en énergie dispersive. Cette technique de fluorescence X en énergie dispersive a été combinée avec deux méthodes statistiques (ACP, CAH) pour une classification précise de ces échantillons.

2- Matériel et méthodes

2.1-Méthode expérimentale

Les échantillons de sol sont directement présentés à l'analyseur de fluorescence X avec une anode d'argent Ag comme source d'excitation et un détecteur optimisé à large géométrie muni de plusieurs filtres comme sources secondaires. La **figure 1** illustre bien le tube de rayon X Niton XLT900s avec la disposition des filtres.

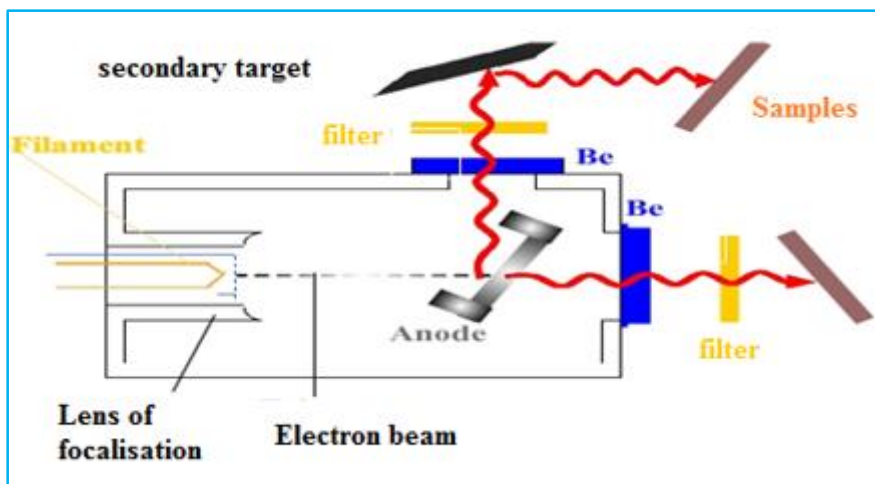


Figure 1 : Tube de Rayons X avec une géométrie typique d'excitation

Dans le **tableau 1** nous présentons les spécifications et les conditions opératoires du spectromètre Niton XLT900s avec différents types de filtres.

Tableau 1 : Spécification et conditions opératoire du Spectromètre Niton XLT900s.

Résolution	178 eV@ Mn K α
Epaisseur de la Fenêtre	12.7 μ m Be
Tube d'Excitation	50KV, 40 A puissance maximum 2W
Diamètre du Faisceau	7mm
Filtres	Liste des éléments ciblés
Source d'Excitation Ag	Sb, Sn, Cd, Pd, Ag, Mo, Nb, Zr, Sr, Rh, Bi, As, Se, Au, Pb, W, Zn, Cu, Re, Ta, Hf, Ni, Co, Fe, Mn, Cr, V, Ti, Th, U
Sandwich de Al, Ti et Mo	Ba, Sb, Sn, Cd, Pd, Ag
Filtre Cu	Cr, V, Ti, Ca, K
Pas de Filtre	Al, P, Si, Cl, S, Mg

2.2-Principe

Son principe consiste à soumettre un échantillon à un rayonnement X intense, ce qui a pour effet d'ioniser les atomes en éjectant les électrons situés sur les couches proches du noyau. L'atome revient ensuite à un état stable par réorganisation de son nuage électronique (Palmer et al., 2009; Robinson et al., 2012). En particulier la place laissée par l'électron éjecté est comblée par un électron issu d'une couche plus externe. Cette transition est radiative et s'accompagne donc d'une émission d'un photon de fluorescence X, d'énergie égale à la différence d'énergie entre les niveaux de départ et d'arrivée de l'électron recombiné, et qui est la signature de l'atome émetteur. En mesurant l'intensité de la fluorescence à chaque énergie, on obtient un spectre de raies d'émission X qui dépend de la composition de l'échantillon. On peut alors déterminer la teneur totale en tous les éléments de l'échantillon ayant un numéro atomique supérieur à une certaine valeur, qui dépend de l'énergie d'excitation (Malik et al., 2019). Ce phénomène est dû au fait que les atomes de Z faible ont un faible rendement de fluorescence ; il ne concerne pas les métaux lourds (Gopinath et al., 2021).

2.3-Méthodologie de préparation des échantillons

Le broyage des échantillons de thé était nécessaire car ces derniers sont très hétérogènes pour subir une analyse directe. Un additif plus connu sous le nom de "binder" est ajouté dans la préparation de l'échantillon. L'addition du binder avant la mise en pastille de l'échantillon est souvent utilisée pour rendre plus stable l'échantillon à analyser. L'agent de liaison doit avoir une absorption faible et le résultat doit être exempt de tout contaminant pouvant provenir du binder. Une masse de 1.2 g d'échantillon de thé a été pesée, mélangée avec 10% de la masse de l'échantillon. Cette proportion de 10% de binder est suffisante dans le processus de broyage pour résoudre des problèmes d'hétérogénéité.

En outre, il est recommandé d'analyser les échantillons solides sous forme de poudre. Ainsi la méthode de préparation des échantillons en fluorescence X permet d'avoir ces échantillons sous une forme compacte et homogène. Le choix du pastillage peut être motivé par le type d'analyse qui est visée. Selon que l'analyse est focalisée sur les éléments majeurs mineurs ou traces, le type d'échantillon s'impose en conséquence. Le pastillage se fait par le biais de deux cylindres en carbure de tungstène où l'échantillon est glissé en ces deux derniers. La pression est estimée entre 10 et 15 tonnes pendant 2 à 3 minutes d'application progressive.

La **figure 2** montre les échantillons de pastilles qui ont été préparée et les accessoires de matériels utilisés.



Figure 2 : Préparation des échantillons de feuilles de thé

2.4-Analyses statistiques

Dans ce travail nous avons utilisé le logiciel **STATISTICA** comme outil de traitement des données qui pourrait nous permettre dans certains cas de mieux analyser les résultats et comprendre la matrice de base des échantillons. La technique de chimométrie permet de corrélérer plusieurs variables afin de mieux comprendre l'influence de plusieurs phénomènes ou constituants dans des échantillons divers et variés dans un espace de dimensions réduites. Il existe plusieurs techniques utilisées en chimométrie parmi lesquelles on peut citer :

- **L'Analyse en Composantes Principales (ACP)** qui est une méthode multidimensionnelle descriptive d'un ensemble de données. L'ACP est une méthode statistique qui permet de réduire un nombre initial élevé de variables plus ou moins corrélées entre elles, à un petit nombre de variables appelés facteurs ou composantes principales, de telle sorte que la variance observée soit maximum (**Stohl, 1998**). Ces facteurs, non corrélés entre eux, sont des combinaisons linéaires des variables initiales
- **Le principe de la Classification Ascendante Hiérarchique (CAH)** consiste à créer, une nouvelle partition de l'ensemble des données en agrégeant les deux éléments les plus proches selon une distance choisit à priori. Les classifications hiérarchiques déterminent une notion de paternité qui se traduit par un dendrogramme indiquant pour chaque niveau, le regroupement effectué.

3- Résultats et discussions

3.1- Composition des différents échantillons de thé

La liste des éléments déterminés inclus les éléments macro, micro dans les échantillons de thé. Dans les **tableaux 2 & 3** sont présentées les moyennes des concentrations des différents éléments en ppm (mg/Kg ou mg/L).

Tableau 2: Concentration (mg/kg_{sec}) des Macro et Micro éléments essentiels dans l'étude des feuilles de thé solide

Échantillons	Unités	Ca	Cr	Ni	Mo	Zn	Cu	Co	Fe	Mn	K
BAFG	mg/Kg	534,92±1,12	1,30±0,20	3,25±0,49	3,45±0,51	18,46±0,19	4,52±0,21	3,11±0,46	194,35±0,84	70,43±0,59	1852,71±2,42
TP3F	mg/Kg	1151,81±1,58	1,17±0,19	3,11±0,50	3,35±0,53	17,15±0,21	4,72±0,22	2,81±0,42	155,92±0,75	16,18±0,64	2247,03±2,55
TC2FB	mg/Kg	1381,76±1,45	1,20±0,18	3,18±0,49	3,48±0,54	22,45±0,18	4,42±0,21	3,51±0,38	216,91±0,68	37,33±0,76	2072,21±2,33
COROSOL	mg/Kg	1478,24±1,69	1,30±0,20	3,04±0,44	3,28±0,48	17,35±0,18	6,03±0,20	2,27±0,34	74,69±0,53	17,39±0,35	1233,54±1,98
TC2F	mg/Kg	1112,57±1,41	1,13±0,19	2,94±0,44	3,08±0,46	13,87±0,20	4,52±0,22	2,58±0,25	106,73±0,60	8,84±0,29	1360,51±1,62
MORINGA	mg/Kg	1846,05±1,94	1,23±0,19	3,21±0,48	3,41±0,51	12,76±0,17	3,88±0,20	2,47±0,37	96,47±0,62	14,54±0,33	992,17±2,03
KINKELIBA	mg/Kg	1575,37±1,79	1,27±0,20	3,18±0,47	3,35±0,49	17,69±0,19	3,95±0,20	2,58±0,38	111,95±0,67	130,95±0,76	858,97±1,70
NGUER	mg/Kg	600,30±1,12	1,30±0,21	3,14±0,49	3,58±0,34	22,82±0,21	6,66±0,22	4,62±0,24	59,81±0,54	103,01±0,68	672,45±1,43
BISSAP	mg/Kg	917,31±1,09	1,17±0,18	2,98±0,44	3,45±0,31	21,01±0,19	4,79±0,19	2,24±0,33	76,33±0,56	111,42±0,57	1548,98±1,97

ND : Not determined ; **BAFG** : Bissap anis étoile feuille de menthe gingembre ; **TP3F** : Thé noir poudre d'orange feuille de menthe feuille de moringa feuille de kinkeliba ; **TC2FB** : Thé vert feuille de nguer clou de giraffe feuille d'eucalyptus feuille de menthe baie de selim ; **TC2F** : Thym citronnelle feuille de laurier feuille de corossol.

Tableau 3: Concentration (mg/L) des Macro et Micro éléments essentiels dans l'étude des infusions de thé

Échantillons	Unités	Ca	Cr	Ni	Mo	Zn	Cu	Co	Fe	Mn	K
BAFG	mg/L	58,54±0,42	0,86±0,22	2,09±0,53	2,49±0,63	2,62±0,12	1,53±0,22	1,23±0,30	4,49±0,34	1,76±0,44	46,70±0,51
TP3F	mg/L	71,88±0,47	0,84±0,22	2,13±0,54	2,33±0,61	3,17±0,13	1,70±0,22	1,19±0,29	3,12±0,33	1,72±0,44	60,75±0,58
TC2FB	mg/L	59,89±0,42	0,84±0,15	2,15±0,55	2,49±0,63	2,68±0,12	1,27±0,32	1,13±0,28	4,611±0,34	1,64±0,40	40,50±0,48
COROSOL	mg/L	63,07±0,42	0,90±0,15	2,09±0,54	2,45±0,62	2,15±0,12	2,02±0,22	1,21±0,28	3,84±0,33	1,62±0,40	18,34±0,34
TC2F	mg/L	60,83±0,26	0,58±0,15	2,13±0,54	2,47±0,62	2,66±0,12	1,27±0,32	1,17±0,28	2,76±0,33	1,66±0,40	21,88±0,23
MORINGA	mg/L	55,14±0,24	0,56±0,15	1,49±0,38	1,70±0,43	2,35±0,10	0,98±0,15	0,82±0,2	2,62±0,23	1,05±0,29	21,84±0,23
KINKELIBA	mg/L	43,05±0,25	ND	1,27±0,29	1,11±0,28	0,58±0,15	2,13±0,13	0,58±0,15	5,10±0,21	1,02±0,21	11,08±0,22
NGUER	mg/L	53,85±0,27	0,60±0,15	1,47±0,37	1,66±0,43	2,25±0,10	1,31±0,15	0,80±0,20	2,43±0,23	1,17±0,30	16,95±0,24
BISSAP	mg/L	53,83±0,29	0,58±0,15	1,37±0,36	2,31±0,27	2,15±0,10	1,17±0,14	0,74±0,18	3,53±0,22	1,21±0,30	36,48±0,33

ND : Not determined ; **BAFG** : Bissap Anis étoile Feuille de menthe Gingembre ; **TP3F** : Thé noir Poudre d'orange Feuille de menthe Feuille de moringa Feuille de kinkéliba ; **TC2FB** : Thé vert feuille de nguer clou de giraffe Feuille d'eucalyptus Feuille de menthe Baie de selim ; **TC2F** : Thym citronnelle feuille de laurier de corossole.

Parmi ces éléments macro le potassium (K) a la concentration la plus grande dans les différentes feuilles de thé avec une valeur moyenne de 1426,512 mg/Kg. Contrairement aux infusions de thé, le calcium est plus représentatif avec une teneur en moyenne de 57,791 mg/Kg. Les concentrations de Ca, Cr, Ni, Mo, Zn, Cu, Co, Fe, Mn et K dans les différents échantillons de thé étudiés présentent des proportions différentes. Cette variabilité de la composition élémentaire des différents échantillons de thé s'explique par le fait que différents facteurs sont mis en jeu incluant la caractéristique du sol où les cultures ont été produites et les conditions environnementales, c'est-à-dire la composition minérale, les échanges au niveau des cations, la taille des graines, la température, la pluviométrie et la qualité de l'air (Marguí et al., 2009; Omote et al., 1995). Autant de paramètres qui interviennent sur la présence ou non de certains éléments dans les échantillons de feuilles de thé vert (Achudume and Owoeye, 2010; Fernández-Cáceres et al., 2001).

Contrairement à la matière végétale (Tableau 2), les infusions de thé (Tableau 3) contiennent des teneurs nettement inférieures en éléments minéraux. D'après les études de (SA and GATHAL, 2015), les teneurs en éléments minéraux augmentent avec l'augmentation du temps d'infusion dans le thé vert. Ils ont pu montrer que la prolongation du temps d'infusion augmente la teneur en zinc dans les infusions préparées de 0,14 à 1,8 mg/g dans le thé vert et la teneur en cuivre dans les infusions de 0,0313 à 0,56 mg/g. Le temps d'infusion a un effet significatif sur le transfert de matière des éléments essentiels. Ainsi, les concentrations relativement faibles dans les infusions pourraient s'expliquer par l'état des éléments minéraux dans les feuilles de thé et qui sont généralement séquestrés par la matière organique (flavonols, les catéchols, les tanins et les polyphénols) ce qui diminue leur libération dans l'infusion.

Analyse en Composante Principale (ACP) dans les feuilles de thé

Les résultats de l'ACP ont été exploités par analyse de la matrice de corrélation et projection des variétés de feuilles de thé dans le plan factoriel F₁-F₂.

Analyse de la matrice de corrélation

L'analyse de la matrice de corrélation entre paramètres dans les feuilles de thé est reportée dans le tableau 4.

Tableau 4 : Matrice de corrélation entre paramètres dans les feuilles de thé

Éléments	Ca	Cr	Ni	Mo	Zn	Cu	Co	Fe	Mn
Ca	1,000								
Cr	-0,126	1,000							
Ni	0,074	0,589	1,000						
Mo	-0,310	0,461	0,596	1,000					
Zn	-0,525	0,232	0,102	0,705	1,000				
Cu	-0,469	0,427	-0,236	0,262	0,486	1,000			

Co	-0,526	0,348	0,386	0,619	0,625	0,518	1,000		
Fe	-0,074	-0,126	0,484	0,102	0,142	-0,478	0,126	1,000	
Mn	-0,354	0,331	0,152	0,505	0,567	0,093	0,247	-0,219	1,000

L'examen de la matrice de corrélation fait clairement ressortir que le Zinc (Zn) et le Cobalt (Co) ont des corrélations négatives avec le calcium (Ca), respectivement (-0,525) et (-0,526). Cette corrélation montre une évolution inversement proportionnelle du Zn et du Co avec le Ca et indique que dans les feuilles de thé présentent des teneurs en Zn et Co faibles, les concentrations en Calcium augmentent de manière significative. La matrice révèle également une bonne corrélation (0,625) entre ces deux éléments minéraux (Zn et Co), ce qui suggère une variabilité proche. Tout ceci devrait être confirmé par l'analyse de la projection dans l'espace des variables.

Analyse dans l'espace des feuilles de thé

L'analyse dans l'espace des variétés de feuilles de thé et des variables est présentée dans le plan F1-F2 (Figure 3 et 4).

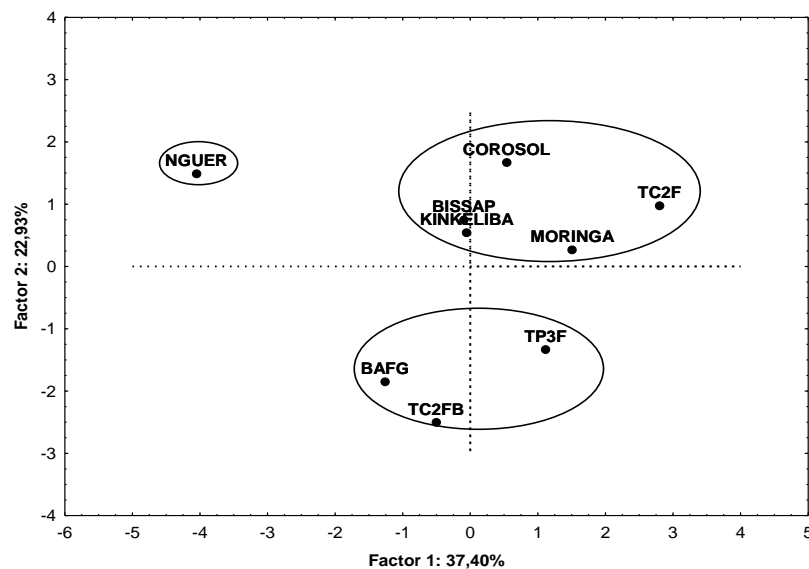


Figure 3 : Analyse dans l'espace des feuilles de thé dans le plan F1-F2

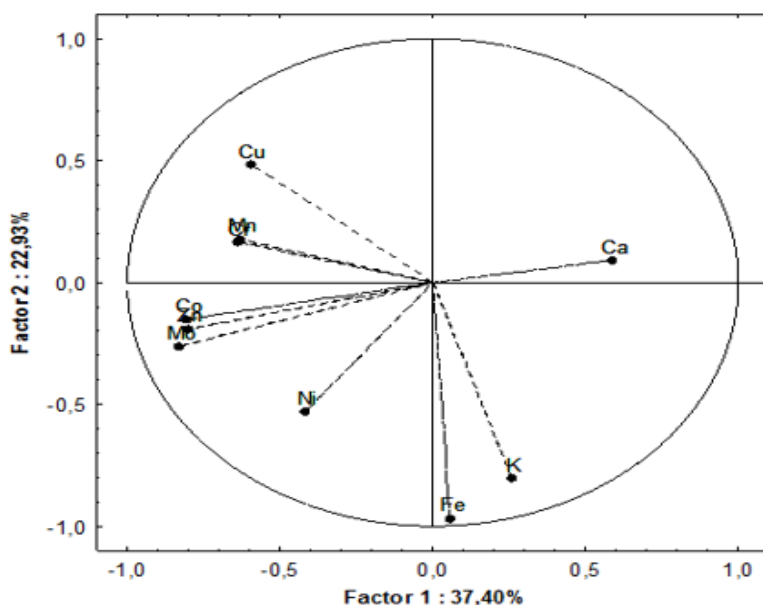


Figure 4 : Analyse dans l'espace des variables dans le plan F1-F2

L'espace des variables dans ce plan indique que le facteur 1 est bien corrélé dans sa partie négative avec les paramètres tels que le Mn, le Co et le Mo et dans une moindre mesure avec le Cu et le Ni. Cependant, le Ca est bien corrélé sur la partie positive de F1. Tous ces types de thé contiennent une quantité importante de minéraux. Ces composants chimiques varient cependant énormément selon l'origine, le type de récolte, le climat, le type de feuilles récoltées, leur préparation, etc.

Le facteur 1 montre principalement que les feuilles de thé de *Moringa oleifera* ont des teneurs en calcium appréciable (1846,050 mg/Kg) contrairement aux feuilles de *Guiera senegalensis* (600,300 mg/Kg). En effet, c'est un élément essentiel pour le corps humain car il représente 2% de notre poids corporel et est le constituant principal de nos os et de nos dents. La teneur journalière recommandée pour un adulte est de 1,2 g. L'axe factoriel 2 est principalement représenté par la relation entre le fer (Fe) et le potassium (K). La position du fer (Fe) et du potassium (K) sur cet axe illustre bien que les mélanges des feuilles de thé tels que TC2FB, BAFG et TP3F (en moyenne Fe : 189,065 mg/Kg et K : 2057,322 mg/Kg) sont riches en Fe et K contrairement aux feuilles de thé d'*Hibiscus sabdariffa*, de *Combretum micranthum* et de *Graviola* (en moyenne Fe : 87,663 mg/Kg et K : 1213,833 mg/Kg). Les études de (Seenivasan et al., 2008; Shen and Chen, 2008) ont montré que le potassium (K) assure plusieurs fonctions vitales: équilibre acido-basique, contrôle du taux des fluides et du pH dans les cellules, participe à la transmission des impulsions nerveuses, essentiel à la contraction musculaire, participe au bon fonctionnement des reins. La teneur journalière recommandée pour un adulte est de 4,7 g.

Classification ascendante hiérarchique (CAH) des feuilles de thé

Le résultat de la classification ascendante hiérarchique sur les différentes feuilles de thé est présenté à la **figure 5**.

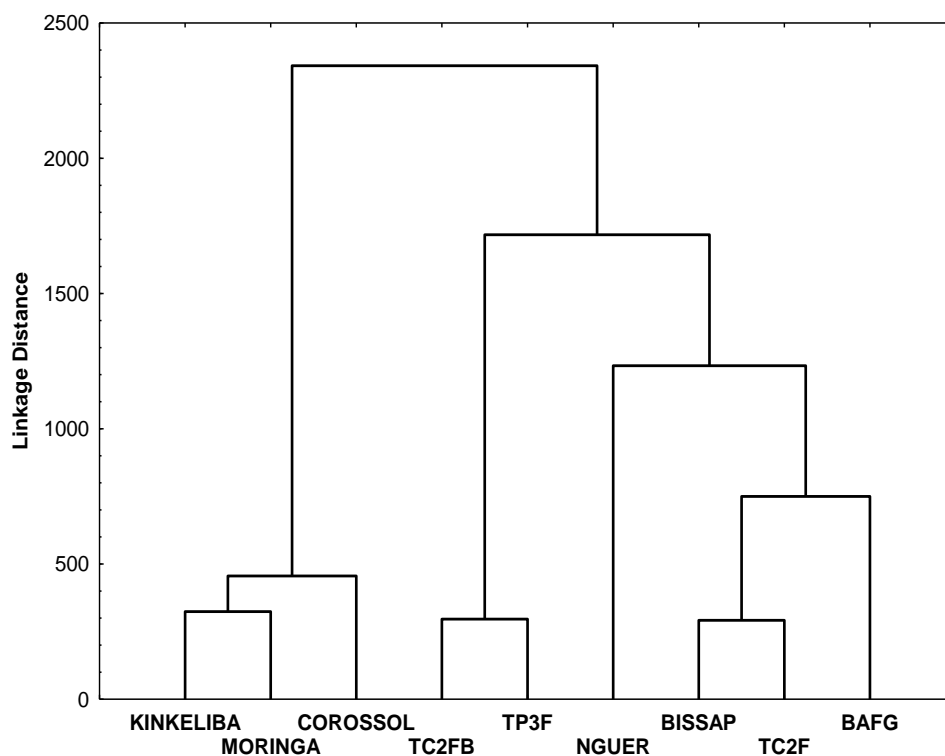


Figure 5 : Dendrogramme des différentes feuilles de thé

Sur la base des distances et de leur position sur le dendrogramme, des classes et des sous-classes distinctes se dégagent sur la **figure 5**. La sous-classe définie par les échantillons de thé tels que le Kinkéliba, le Moringa et le Corossol indique qu'ils ont environ les mêmes profils en éléments minéraux. En outre, c'est la même observation qui a été faite également dans les variétés de thé de Nguer, Bissap, TC2F et BAFG. Cependant, ces compositions chimiques **varient drastiquement** en fonction de la qualité, la variété de thé, l'origine, la situation topologique du terrain cultivé, le nombre de récoltes, l'âge des feuilles, la partie de la plante récoltée, et les techniques de transformation (**Nookabkaew et al., 2006; Yemane et al., 2008**).

Conclusion

Les vertus du thé ne sont plus à démontrer. Cette étude a permis de mieux comprendre l'influence de la nature des feuilles de thé locaux sur l'extraction des éléments minéraux.

Les résultats trouvés au cours de cette étude confirment la forte présence de ces substances où les feuilles de thé (*Moringa*) sont plus riches en métaux notamment le calcium. Ainsi, le potassium (K) est l'élément le plus abondant dans la matière végétale, suivi par le calcium (Ca), le fer (Fe) et le manganèse (Mn) alors que les teneurs en cadmium (Cd), l'arsenic (As) et le plomb (Pb) sont inférieures à la limite de détection de la méthode d'analyse utilisée. L'examen des données d'analyse des infusions de thé a

montré un effet significatif du temps d'infusion sur le transfert des éléments minéraux vers l'infusion. Cependant, cette étude a permis de montrer que les faibles rendements d'extraction des éléments minéraux expliquent par l'état des de ces derniers dans les feuilles de thé et qui sont généralement séquestrés par la matière organique qui limite le transfert des minéraux dans l'infusion.

References

- Budínová, G., Vláčil, D., Mestek, O., Volka, K., 1998. Application of infrared spectroscopy to the assessment of authenticity of tea. *Talanta* 47, 255-260.
- Chen, Q., Zhao, J., Fang, C., Wang, D., 2007. Feasibility study on identification of green, black and Oolong teas using near-infrared reflectance spectroscopy based on support vector machine (SVM). *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 66, 568-574.
- Chen, Y., Yu, M., Xu, J., Chen, X., Shi, J., 2009. Differentiation of eight tea (*Camellia sinensis*) cultivars in China by elemental fingerprint of their leaves. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 89, 2350-2355.
- Gopinath, K.P., Vo, D.-V.N., Gnana Prakash, D., Adithya Joseph, A., Viswanathan, S., Arun, J., 2021. Environmental applications of carbon-based materials: a review. *Environmental Chemistry Letters* 19, 557-582.
- Malik, L.A., Bashir, A., Qureashi, A., Pandith, A.H., 2019. Detection and removal of heavy metal ions: a review. *Environmental Chemistry Letters* 17, 1495-1521.
- Palmer, P.T., Jacobs, R., Baker, P.E., Ferguson, K., Webber, S., 2009. Use of field-portable XRF analyzers for rapid screening of toxic elements in FDA-regulated products. *Journal of agricultural and food chemistry* 57, 2605-2613.
- Robinson, A., Harroun, S., Bergman, J., Brosseau, C., 2012. Portable electrochemical surface-enhanced Raman spectroscopy system for routine spectroelectrochemical analysis. *Analytical chemistry* 84, 1760-1764.
- Stohl, A., 1998. Computation, accuracy and applications of trajectories—A review and bibliography. *Atmospheric Environment* 32, 947-966.

Potentiel fonctionnel des feuilles, pétioles, pulpes et amandes torréfiées du *Tamarindus indica* L. du Bénin

KANFON Rose E^{1,2,3}, CHADARE Flora Josiane^{1,2}, AGBANGNAN D. C. Pascal³

¹Laboratoire des Sciences et Technologie des Aliments et Bio-ressources et de Nutrition Humaine (LaSTABNH),
Centre Universitaire de Sakété, Université Nationale d'Agriculture, Bénin.

²Ecole de Nutrition et des Sciences et Technologies des Aliments, Faculté des Sciences Agronomiques,
Université d'Abomey-Calavi (ENSTA/FSA/UAC), Abomey-Calavi, Bénin.

³Laboratoire d'étude et de Recherche en Chimie Appliquée/ Ecole Polytechnique d'Abomey Calavi/ Université
d'Abomey Calavi, 01BP : 2009 Cotonou, Bénin.

GT3 : ReSAOA

*Auteur pour correspondance : fchadare@gmail.com, kanfon.rose@gmail.com

Résumé :

La présente étude vise à évaluer le potentiel fonctionnel des feuilles, pétioles, pulpes et amandes torréfiées d'une ressource alimentaire de grande consommation en milieu rural au Bénin, le *Tamarindus indica*. Les polyphénols totaux ont été dosés par le réactif de Folin-Ciocalteu, les flavonoïdes totaux et les tanins condensés respectivement par la méthode au trichlorure d'aluminium et au Butanol chlorhydrique. Le criblage phytochimique a révélé la présence des anthraquinones, anthocyanes, coumarines, composés réducteurs, flavonoïdes, leucoanthocyanes, stéroïdes et terpénoïdes dans les feuilles, pétioles et pulpe du *Tamarindus indica*. Seules les amandes torréfiées renferment des alcaloïdes. L'extrait hydroéthanolique des feuilles présente la plus forte teneur en polyphénols et flavonoïdes totaux soit respectivement sur base de matière sèche ($0,82 \pm 0,00$) mg EAG/g et ($26,82 \pm 0,03$) mg EQ/ g suivi de l'extrait hydroéthanolique des pétioles avec ($0,68 \pm 0,00$) mg EAG/g et ($14,70 \pm 0,01$) mg EQ/ g. La plus forte teneur en tanins condensés a été enregistrée dans l'extrait hydroéthanolique des pétioles ($32,5738 \pm 0,0356$) mg EQ/g. Ces résultats traduisent un fort potentiel fonctionnel du *Tamarindus indica* qui mérite un intérêt particulier dans les industries agroalimentaires pour le développement de « nouveaux produits ».

Mots clés : Potentiel fonctionnel, *Tamarindus indica*, pulpes, amandes torréfiées.

Functional potential of leaves, petioles, pulp and roasted kernels of *Tamarindus indica* L. from Benin

Abstract:

This study aims to assess the functional potential of leaves, petioles, pulp and roasted almonds of a food resource widely consumed in rural areas in Benin, *Tamarindus indica*. Total polyphenol were assayed by the Folin-Ciocalteu reagent, total flavonoids and condensed tannins respectively by the aluminum trichloride and hydrochloric butanol method. Phytochemical screening revealed the presence of

anthraquinones, anthocyanins, and coumarins, reducing compounds, flavonoids, leucoanthocyanins, steroids and terpenoids in the leaves, petioles and pulp of *Tamarindus indica*. Only roasted almonds contain alkaloids. The hydroethanolic extract of the leaves has the highest content of total polyphenols and flavonoids, respectively on a dry matter basis (0.82 ± 0.00) mg EAG/g and (26.82 ± 0.03) mg EQ/g followed by the hydroethanolic extract of the petioles with (0.68 ± 0.00) mg EAG/g and (14.70 ± 0.01) mg EQ/g. The highest content of condensed tannins was recorded in the hydroethanolic extract of petioles (32.5738 ± 0.0356) mg EQ/g. These results reflect a strong functional potential of *Tamarindus indica*, which deserves particular interest in the food industries for the development of "new products".

Keywords: Functional potential, *Tamarindus indica*, pulps, roasted almonds.

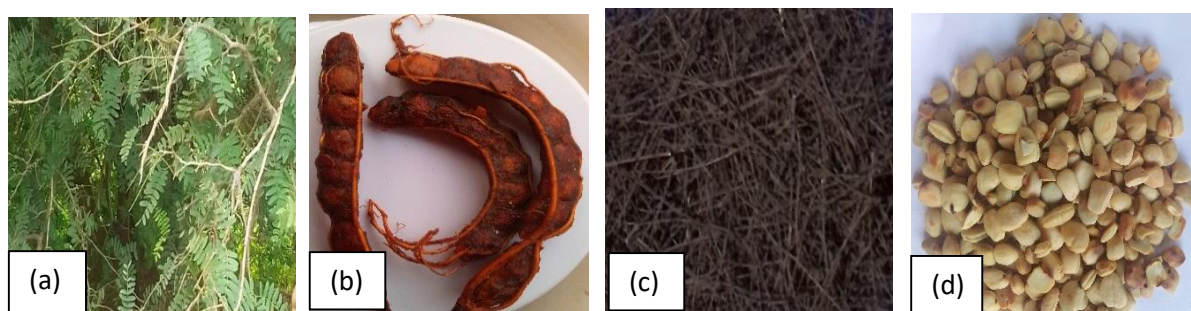
1. Introduction

Riche et diversifiée, la flore béninoise comporte de nombreuses plantes alimentaires (Chadare, 2010) sous-utilisées (Vitoekpon & Fandohan, 2021) malgré leur disponibilité. Au nombre de ces plantes, le *Tamarindus indica* ou « tamarinier » désigné par « Mossosso » chez les Dendi et Bariba au Nord et « Djèvivi » au Sud du Bénin occupe une place non négligeable. De la famille des Fabacées et indigène à l'Afrique de l'Ouest tropicale, *Tamarindus indica* L. pousse à l'état sauvage dans tout le Soudan. L'importance de l'arbre réside dans le fait que presque toutes les parties de la plante ont une certaine utilisation dans les domaines alimentaire, thérapeutique, cosmétique, fourrager et énergétique (Borquaye et al., 2020). Une revue de littérature réalisée sur l'espèce a montré que, outre ses propriétés physicochimiques (Borquaye et al., 2020; Mehdi et al., 2019) et pharmacologiques (Uzukwu et al., 2016; Krishna et al., 2020), *Tamarindus indica* constitue une source de minéraux, de vitamines, d'acides organiques, de sucres et de protéines (Favet et al., 2011). Sa pulpe sert dans la formulation des boissons locales obtenues par macération dans l'eau tandis que les graines issues de cette transformation constituent une source non valorisée de protéines végétales (De Caluwé et al., 2010) en raison de leur inadaptation pour la santé humaine mais deviennent comestibles après torréfaction ou trempage dans l'eau (Favet et al., 2011). Ses feuilles sont généralement utilisées pour nourrir les bétails (Singh et al., 2007) ou consommées comme légume par la population rurale en Afrique subsaharienne (Garba et al., 2019). Il peut donc contribuer à la lutte contre l'insécurité alimentaire dans les pays en voie de développement où le fléau de la faim et la malnutrition surtout infantile restent encore un défi majeur à relever (ONU, 2020). Une bonne connaissance de la composition physicochimique des organes comestibles du *Tamarindus indica* L. du Bénin constitue un indicateur majeur pour la valorisation alimentaire de la plante, la maîtrise des pratiques alimentaires adéquates et une utilisation efficace et efficiente de l'espèce. La présente étude s'est inscrite dans ce cadre et s'est focalisée sur l'évaluation du potentiel fonctionnel des feuilles, pétioles, pulpe et amandes torréfiées du *Tamarindus indica* L. du Bénin à travers l'exploration des grands groupes chimiques présents dans les extraits de ces organes et la quantification des composés polyphénoliques qu'ils renferment.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal

Il est constitué des feuilles (Figure 1a) et de la pulpe du fruit de *Tamarindus indica* L. (Figure 1b). Les feuilles dépétiolées et les pétioles (Figure 1c) ont été séchées à température ambiante et à l'abri du soleil pendant 21 jours. La pulpe a été déségrenée et défibrillée alors que les graines ont été torrifiées et débarrassées de leurs téguments pour libérer les amandes torrifiées (Figure 1d). Les feuilles sèches, pétioles secs et amandes torrifiées ont été broyés et utilisés pour l'extraction solide-liquide dans de l'éthanol aqueux (50%, v:v) à température ambiante.



Source : Kanfon, Sékou, 2021 Source: Kanfon, Bassila, 2021 Source : Kanfon, Abomey-Calavi, 2021

Figure 1: Feuilles (a), pulpe du fruit (b), (c) pétioles secs et amandes torrifiées (d) de *Tamarindus indica*

2.2. Méthodes

2.2.1. Screening phytochimiques

L'analyse phytochimique pour la détermination des principaux constituants présents dans les différents échantillons a été réalisée par des tests de coloration et/ou de précipitations en tube spécifiques à chaque famille de composé (Houghton & Raman, 1998; Koudoro *et al.*, 2021).

2.2.2. Dosage des composés phénoliques

❖ **Teneur en polyphénols totaux (PPT)** : Le réactif de « Folin-Ciocalteu » a été utilisé pour la quantification des polyphénols totaux selon Singleton et ses collaborateurs (1999). Elle a été effectuée par la comparaison de la densité optique (DO) observée pour l'extrait à celle obtenue dans les mêmes conditions pour un étalon d'acide gallique de concentrations connues.

❖ **Teneur en flavonoïdes totaux (FVT)** : Les flavonoïdes totaux ont été dosés par la méthode du trichlorure d'aluminium (Agbangnan *et al.*, 2012; Enujiugha, 2010) et la concentration en flavonoïdes a été déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée avec la quercétine.

❖ **Teneur en tanins condensés (TC)** : La teneur en tanins condensés a été déterminée par la méthode au Butanol-HCl (9:1). Les valeurs obtenues sont exprimées en mg/g à partir de la formule suivante:

$$TC \text{ (mg/g)} = A_{500nm} \times 78,26 \times FD \times \frac{1}{C}$$

Avec : TC = Teneur en tanins condensés ; A = Absorbance enregistrée à 550 nm ;

FD : facteur de dilution et C = concentration massique de la solution.

2.3. Analyses statistiques

Le logiciel R a été utilisé pour l'analyse statistique des données. La différence significative entre les moyennes a été évaluée à l'aide d'une analyse de variance à un facteur (ANOVA) pour 95% de valeur significative. Lorsque ($p < 0,05$), la différence a été considérée comme significative.

3. Résultats

3.1. Criblage phytochimique des extraits d'organes de *Tamarindus indica*

Le criblage phytochimique des différents organes du *Tamarindus indica* présenté dans le tableau 1 a montré que l'extrait hydroéthanolique des feuilles et celui des pétioles renferment des polyphénols, des dérivés anthracéniques, des stérols et terpénoïdes tandis que les amandes torréfiées renferment des composés azotés. Les dérivés cyanogéniques, les tanins galliques et mucilages ont été absents de tous les organes investigués. Sur les quinze groupes chimiques recherchés, les feuilles et pétioles du *Tamarindus indica* en contiennent onze alors que les amandes torréfiées et la pulpe du fruit de l'arbre en contiennent respectivement sept et huit. Les feuilles et pétioles du *Tamarindus indica* sont les plus riches en composants bioactifs.

Tableau 1: Composition en métabolites secondaires des organes de *Tamarindus indica*

Groupes chimiques recherchés	AT	F	P	Pu
Anthocyanes	-	+	+	-
Coumarine	+	+	+	+
Flavonoïdes libres	-	+	+	+
Leucoanthocyanes	+	+	+	-
Tanins	-	+	+	+
Tanins catéchiques	-	+	+	+
Tanins galliques	-	-	-	-
Alcaloïdes	+	-	-	-
Anthraquinones	+	+	+	+
Composés réducteurs	+	+	+	+
Dérivés cyanogéniques	-	-	-	-

Mucilage	-	-	-	-
Saponosides	-	+	+	-
Stérols	+	+	+	+
Terpènes	+	+	+	+

Légende : AT = Amandes torréfiées ; F = Feuilles ; P = Pétioles ; Pu = Pulpe ; - = Absence et + = Présence.

2.2. Dosage des composés phénoliques des organes étudiés de *Tamarindus indica*

La détermination des teneurs en composés phénoliques a concerné la quantification des phénols totaux (PPT), des flavonoïdes totaux (FVT) et des tanins condensés (TC) des extraits hydroéthanoliques des feuilles, pétioles, pulpe et amandes torréfiées (Figure 2) de *Tamarindus indica*. Elle montre une diversification de la répartition des teneurs en fonction des organes prospectés.

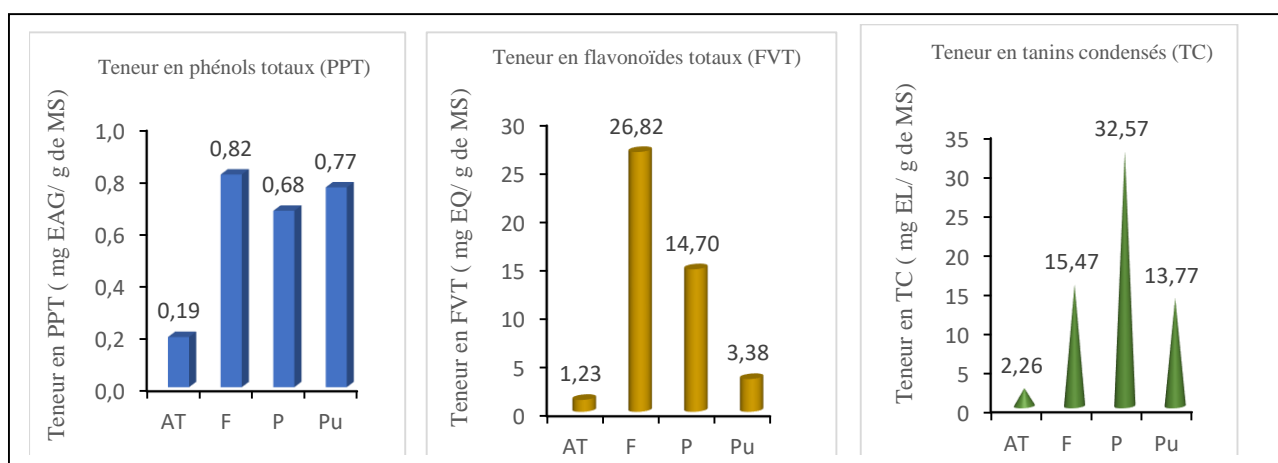


Figure 2 : Teneurs en PPT, en FVT et en TC des organes prospectés du *Tamarindus indica*

Légende : AT = Amandes torréfiées ; F = Feuilles ; P = Pétioles ; Pu = Pulpe

❖ **Teneur en polyphénols totaux (PPT) :** La teneur en PPT des extraits hydroéthanoliques des différents échantillons a été exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/ g de MS). Elle varie de (0,019 ± 0,000) à (0,824 ± 0,001) mg EAG/g de MS (Figure 2). Les feuilles du *Tamarindus indica* ont présenté la plus forte teneur en polyphénols (0,824 ± 0,001) mg EAG/g de matière sèche suivies de la pulpe (0,680 ± 0,000) mg EAG/g de MS et des pétioles (0,770 ± 0,002) mg EAG/g de MS.

❖ **Teneur en flavonoïdes totaux (FVT) :** Exprimées en milligramme-équivalent de quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ / g de MS), les teneurs en FVT oscillent entre (1,230 ± 0,003) pour les amandes torréfiées et (26,820 ± 0,027) mg EQ/g de MS pour les feuilles (Figure 2). La forte teneur en flavonoïdes a été observée au niveau des feuilles avec 26,820 mg EQ/g de MS.

❖ **Teneur en tanins condensés (TC):** La figure 2 présente les teneurs en TC des extraits hydroéthanoliques des organes de *Tamarindus indica*. Exprimées en milligramme-équivalent de leucocyanidines par gramme de matière sèche (mg EL/g de MS) elles sont comprises entre $(2,260 \pm 0,008)$ mg EL/ g de MS pour les amandes torréfiées et $(32,574 \pm 0,036)$ mg EL/g de MS pour les pétioles. La plus forte teneur en TC a été observée dans les pétioles $(32,574 \pm 0,036)$ mg EL/g de MS.

3. Discussion

L'analyse phytochimique qualitative des extraits hydroéthanoliques des organes de *Tamarindus indica* réalisée dans la présente étude a mis en évidence la richesse des feuilles et des pétioles en tanins, polyphénols totaux, flavonoïdes, coumarines, anthraquinones, sucres réducteurs, stéroïdes et terpénoïdes. Les amandes torréfiées constituent le seul organe où la présence des alcaloïdes a été révélée dans cette étude. Ces résultats sont similaires à ceux rapportés par Ahodègnon *et al.* (2018) au Bénin et Adeniyi *et al.* (2017) au Nigéria qui ont signalé la présence de tanins catéchiques, flavonoïdes, coumarine, anthraquinones, terpénoïdes et l'absence d'anthocyanes dans l'extrait éthanolique de la pulpe de *Tamarindus indica*. D'autres auteurs ont notifié la présence des saponines, terpénoïdes, flavonoïdes (Highab *et al.*, 2022), alcaloïdes (Adeniyi *et al.*, 2017) et tanins (Santosh *et al.*, 2011); dans les extraits éthanolique et aqueux des feuilles. La différence observée entre nos résultats et la littérature serait liées aux facteurs climatiques ou édaphiques des lieux de prélèvement de chaque échantillon. Aussi, l'absence des alcaloïdes et de mucilages constatés dans nos échantillons (Tableau 1) pourrait s'expliquer par la fragilité de ces métabolites rapidement dégradables. Contrairement aux feuilles et à la pulpe du *Tamarindus indica*, aucune recherche ne semble fournir dans la littérature des informations sur la composition chimique des pétioles et la teneur en composés phénoliques des amandes torréfiées de la plante. Les résultats issus de la présente étude constituent donc pour ces deux organes un premier rapport scientifique les concernant.

Les diverses propriétés biologiques reconnues aux métabolites identifiés dans les feuilles, pétioles, amandes torréfiées et pulpe de *Tamarindus indica* font de cette plante une source d'« aliment fonctionnel ». En effet, de par les activités antioxydante, anticancéreuse, antiseptique, antimicrobienne, antihypertensive, anti-diarrhéiques, anti-âge et décongestionnante reconnues aux polyphénols (Pascal *et al.*, 2018), antivirale des tanins (Boukri, 2014 cités dans Kanfon *et al.*, 2018), antiplasmodiale attribuées aux flavonoïdes (Highab *et al.*, 2022), vitaminiques et veinotonique prouvées des anthocyanes (De Caluwé *et al.*, 2010), stimulantes reconnues aux alcaloïdes (Highab *et al.*, 2022) et hypocholestérolémique des stéroïdes (Havinga *et al.*, 2010), la consommation des feuilles, pétioles, pulpe et amandes torréfiées de *Tamarindus indica* serait bénéfique pour l'homme à plus d'un titre. Elle contribuerait entre autres, à la lutte contre les infections, les maladies cardiovasculaires et dégénératives, à retendre les tissus souples ou restaurer ceux endommagés par une brûlure, à améliorer la vision

crépusculaire, à maintenir une bonne circulation sanguine, à soulager les troubles gastro-intestinaux, à faciliter la digestion, à combattre la constipation, à baisser la cholestérolémie (Piba *et al.*, 2021). Ces résultats consolident l'implication de l'espèce dans le traitement du paludisme, de la fièvre typhoïde, des plaies, du cancer, de la cataracte et de l'hyperglycémie par les populations locales du Bénin, Ghana, Nigéria et Soudan (Fandohan, 2007 ; Havinga *et al.*, 2010). Ils justifient également l'utilisation de la pulpe comme laxative ou fébrifuge rapportée par Ouédraogo *et al.* (2010). Par conséquent, les aliments issus de la transformation des différents organes de cette plante peuvent être conseillés dans les régimes alimentaires pour renforcer le système immunitaire et aider l'organisme dans la lutte contre les radicaux libres.

Les teneurs en composés phénoliques présents dans les extraits analysés varient significativement en fonction des organes prospectés ($p < 0,05$). Cette variation serait liée aux facteurs extrinsèques et intrinsèques relatifs à chaque organe. En effet, des auteurs ont rapporté que la teneur en composés phénoliques d'un aliment est fonction de l'organe considéré, de son degré de maturation (Aouidi *et al.*, 2009) ou de son origine géographique (Rebey *et al.*, 2016; Kanfon *et al.*, 2018).

Sachant que les métabolites secondaires sont synthétisés par les plantes pour faire face aux agressions environnementales, la teneur en composés phénoliques dans les organes plus âgés ou plus exposés devrait être supérieure à celle des jeunes organes ou moins exposés. Cette théorie corrobore les teneurs en flavonoïdes totaux et en tanins condensés dans cette étude et valide la méthode de dosage mise en application pour ces deux métabolites. La poudre de ces organes pourrait donc être conseillée et utilisée comme additif dans les industries agroalimentaires pour préserver les aliments ou autres produits de la décoloration, du rancissement et de l'auto-oxydation (Kanfon *et al.*, 2018).

4. Conclusion

Cette étude, focalisée sur l'investigation de la valeur fonctionnelle des feuilles, pétioles, pulpe et amandes torréfiées du *Tamarindus indica*, a permis de constater la richesse et la diversité en métabolites secondaires de ces organes. La présente étude constitue donc une contribution à la connaissance de la composition phytochimique du *Tamarindus indica* pour son utilisation dans le domaine agroalimentaire. Au vu des résultats obtenus, le *Tamarindus indica* est une plante alimentaire dont la consommation présente des effets nutritionnels et fonctionnels importants pour l'homme. Ces organes prospectés peuvent donc être recommandés dans les régimes alimentaires en vue de la prévention et surtout de la prise en charge certaines affections.

5. Référence bibliographique

Adeniyi, O., Olaifa, F., Emikpe, B., & Ogunbanwo, S. (2017). Phytochemical Components and Antibacterial Activity of *Tamarindus indica* Linn. Extracts against Some Pathogens. *Biotechnology Journal International*, 17(2), 1-9. <https://doi.org/10.9734/BJI/2017/30618>

- Agbangnan, P. D., Tachon, C., Bonin, H., Chrostowska, A., A, Fouquet, E., & Sohounhloue, K. D. (2012). Phytochemical study of a tinctorial plant of Benin traditional pharmacopoeia : The red sorghum (*sorghum caudatum*) of Benin. *Scientific Study & Research*, *13*, 121-135.
- Ahodegnon, D. K., Gnansounou, M., Bogninou, R. G., Kanfon, E. R., Chabi, B., Dossa, P. C. A., Anago, E. A., Ahoussi, E., Wotto, V., & Sohounhloue, D. C. (2018). Biochemical profile and antioxidant activity of *Parkia biglobosa* and *Tamarindus indica* fruits acclimated in Benin. *International journal of advanced research*, *6*(11), 702-711.
- Aouidi, F., Perraud-Gaime, I., Roussos, S., & Hamdi, M. (2009). *Etude de la répartition quantitative des phénols totaux dans l'olivier en fonction des organes et leur degré de maturité*, 376-379.
- Borquaye, L. S., Doetse, M. S., Baah, S. O., & Mensah, J. A. (2020). Anti-inflammatory and anti-oxidant activities of ethanolic extracts of *Tamarindus indica* L.(Fabaceae). *Cogent Chemistry*, *6*(1), 1743403.
- Chadare, F. J. (2010). *Baobab (Adansonia digitata L.) foods from Benin : Composition, processing and quality* [Doctoral Thesis]. Wageningen University.
- De Caluwé, E., Halamová, K., & Van Damme, P. (2010). Tamarind (*Tamarindus indica* L.) : A review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Afrika focus*, *23*(1), 53-83.
- Enujiugha, V. N. (2010). The Antioxidant and Free Radical-Scavenging Capacity of Phenolics from African Locust Bean Seeds (*Parkia biglobosa*). *Advances in Food Sciences*, *32*(2), 88-93.
- Favet, R., Frikart, M.-J., & Grolleau. (2011). *Richesses et potentialités des agroressources dans les PED UE 9 – IAAS 3 : La valorisation du tamarin*. <https://www.google.com/search?client=firefox-b-d&q=La+valorisation+du+tamarin>
- Garba, A., Amani, A., Laouali, A., & Mahamane, A. (2019). Perceptions et usages socioéconomiques du tamarinier (*Tamarindus indica* L.) dans le Sud-Ouest du Niger : Implications pour une domestication et une conservation durable. *Journal of Animal and Plant Sciences*, *40*(2), 6584-6602.
- Highab, S. M., Raji, I., Abubakar, A., & Hassan, F. I. (2022). Analgesic Activity of Methanol Leaf Extract of *Tamarindus Indica* Plant in Mice and Rats. *Dutse Journal of Pure and Applied Sciences*, *7*(3b), 143-154. <https://doi.org/10.4314/dujopas.v7i3b.16>
- Houghton, P. J., & Raman, A. (1998). *Laboratory Handbook for Fractionation of Natural Extracts* (Chapman and Hall). <https://www.google.com/search?client=firefox-b-d&q=houghton+et+al%2C+1998>
- Kanfon, R. E., Gnawe, M., Agbangnan Dossa, C. P., Yedomonhan, H., Wotto, D. V., & Sohounhloue, C. K. D. (2018). Caractérisation physico-chimique et évaluation de l'activité antiradicalaire des

extraits de sept morphotypes de gombo (*Abelmoschus* spp.) cultivés au Bénin. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 12(3), 1447. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v12i3.30>

Kini, F., Saba, A., Ouedraogo, S., Tinguéri, B., Sanou, G., & Guissou, I. P. (2008). Potentiel nutritionnel et thérapeutique de quelques espèces fruitières «sauvages» du Burkina Faso. *Pharmacopée et médecine traditionnelle africaine*, 15.

Koudoro, Y. A., Awadji, J. M., Botezatu, D. A., & et al. (2021). Phytochemical analysis, antioxidant and anti-inflammatory activities of *Chassalia kolly* leaves extract, a plant used in Benin to treat skin illness. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 15(03), 063-072.

Krishna, R. N., Anitha, R., & Ezhilarasan, D. (2020). Aqueous extract of *Tamarindus indica* fruit pulp exhibits antihyperglycaemic activity. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 10(5), 440.

Mehdi, M. A., Alarabi, F. Y., Farooqui, M., & Pradhan, V. (2019). Phytochemical screening and antiamebic studies of *Tamarindus indica* of leaves extract. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 507-512. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2019.v12i2.29684>

ONU. (2020). *Rapport de l'ONU : Alors que la faim augmente et que la malnutrition persiste, la réalisation de l'objectif Faim zéro d'ici à 2030 est compromise*. google.
<https://www.who.int/fr/news/item/13-07-2020-as-more-go-hungry-and-malnutrition-persists-achieving-zero-hunger-by-2030-in-doubt-un-report-warns>

Ouédraogo, S., Kini, F., Traoré-Coulibaby, M., Traore, A., Tinguéri, B. L., & Guissou, I. P. (2010). Etude des propriétés pharmacologiques du fruit de *Tamarindus indica* Linn, utilisé comme laxatif et antipaludique en médecine traditionnelle. *Fruit Veg Cereal Sci Biotech*, 4(SI 1), 31-35.

Pascal, A. D. C., Diane, B. F. T., Dohoué, A. F. A., Estelle, K. R., Valentin, W. D., & Dominique, S. C. K. (2018). *Secondary Metabolites of Plants and Their Impact on Health : Case of Polyphenols (A Review)*. 13.

Piba, S. C., Konan, P. A. K., Kone, L. N., Kouame, A. G., Kouakou, R. K. D., & Tra, H. F. B. (2021). Phytochimie, activité antioxydante et toxicité aiguë de plantes médicinales utilisées contre les séquelles de l'accident vasculaire cérébral en Côte d'Ivoire. *International journal of biological and chemical sciences*, 15(2), 652-663.

Rebey, I. B., Sriti, J., Besbess, B., Mkaddmini Hammi, K., Hamrouni Sellami, I., Marzouk, B., & Ksouri, R. (2016). Effet de la provenance et du solvant d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes des graines de fenouil (*Foeniculum vulgare* Mill.) *Journal of New Sciences*. *Journal of new sciences*, 27(4).

Santosh, S. B., Ganeshpurkar, A., Narwaria, J., Rai, G., & Alok, P. J. (2011). *Tamarindus indica* : Extent of explored potential; *Pharmacogn Rev*, 5(9), 73-81.

Singh, D., Wangchu, L., & Moond, S. K. (2007). Processed products of Tamarind. *Natural Product Radiance*, 6(4), 315-321.

Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Methods in enzymology* (Vol. 299, p. 152-178). Elsevier.

Uzokwu, E. U., Shori, A. B., & Baba, A. S. (2016). Phytochemistry and Medicinal Uses of Tamarindus indica and Persea Americanaas Sources of Plant Nutrients. *American Journal of Plant Biology*, 1(1), 30-34.

Vitokpon, I., & Fandohan, A. B. (2021). Tamarindus indica L. : Potentiel exploré pour la domestication et perspectives de recherche. *Sciences and Technologies for Sustainable Agriculture*, 1(1), 39-56.

Contribution à la valorisation locale des protéines fongiques des ressources forestières non ligneuses du Mali : Cas de *Pleurotus populinus*, *Auricularia cornea* et *Chlorophyllum palaeotropicum*

Karim Dagno¹, Mahamoudou Traotr² Moussa Kanté³

1. IER, Centre Régional de Recherche Agronomique de Sotuba. BP : 262. Bamako, Mali, Email :

karimdagno@yahoo.fr :

2. IPR/IFRA, Tel: (+223) 2126 20 12, FAX: (+223)2126 25 04 E-mail: mahamoudoutraore85@gmail.com;

3. Université de Ségou, FAMA. Tel : 21320557 Ségou, Mali. Email : moussa4ml@yahoo.fr .

GT3 (ReSAOA) : Sciences agroalimentaires Ouest-Africain

Résumé :

Les champignons sauvages comestibles sont des ressources forestières non ligneuses qui peuvent contribuer à la diversification du régime alimentaire et des revenus au Mali [1]. Ils sont saisonniers et poussent en faible population dans les forêts à cause de la diminution de la pluviométrie [2]. Cette étude vise l'évaluation de la capacité de colonisation d'un milieu gélosé (Potatoe Dextrose Agar) et des grains de céréales (Sorgho, mil et riz paddy) de trois sources sauvages de protéines fongiques *Pleurotus populinus* (Souche KD005), *Auricularia cornea* (KD007) et *Chlorophyllum palaeotropicum* (KD008). Les grains de céréales inoculés avec les souches de champignons ont été incubés à 20°C ±2 à l'abri de la lumière pendant 4 semaines [1]. Les résultats obtenus montrent que toutes les souches peuvent pousser sur le milieu gélosé. Quant à la production des semences, on a observé une durée de colonisation allant de 3,6 à 12j et 5 à 26 jours respectivement pour les 50% et 100% de colonisation des grains. Pour le temps de colonisation 100% des grains de sorgho, la souche KD008 a eu le meilleur temps court tandis qu'il a été très long avec 26 j sur le paddy pour la souche KD007. Ces résultats ouvrent les perspectives de productions à grande échelle des protéines fongiques avec les possibilités de produire des semences en un temps plus optimal.

Mots clés : Protéines fongiques, ressources forestières, Champignon comestible, Mali

Contribution to local valorization of fungal proteins from non-timber forest resources in Mali: Case of *Pleurotus populinus*, *Auricularia cornea*, and *Chlorophyllum paleotropical*

Abstract or summary

Wild edible mushrooms are non-timber forest resources which can contribute to diversify the diet and income in Mali [1]. Due to decrease rainfall, they are seasonal and grow in low numbers in forests [2]. This current study aims to evaluate the colonization capacity of an agar medium (Potatoes' Dextrose

Agar) and cereal grains (Sorghum, millet and paddy rice) of three wild sources of fungal proteins including *Pleurotus populinus* (Strain KD005), *Auricularia cornea* (KD007) and *Achlorophyllous palaeotropicum* (KD008). Cereal grains have been inoculated with mushrooms strains and incubated for four weeks at 20°C away from light [1]. Our findings revealed that all the strains can grow on the agar medium. As for spores' production, we observed that the duration of colonization ranged from 3.6 to 12 days, and 5 to 26 days respectively for the 50% and 100% of colonization of the grains. For 100% colonization time of sorghum grains, the KD008 strain had the best short time while it was very long with 26 days on paddy for the KD007 strain. Therefore, these findings lay a foundation for large-scale production of fungal proteins, as well as the possibility to produce spores at a more optimal period.

Keywords: Fungal proteins, forest resources, edible mushroom, Mali.

1. INTRODUCTION

Les mycètes font partie intégrante de la plupart des écosystèmes naturels, et contribuent à la redistribution des ressources alimentaires utilisées par l'ensemble des organismes du milieu [3]. De nombreuses espèces fongiques ont un intérêt en nutrition et en santé humaine [3]. En Afrique subsaharienne, des travaux sur les champignons sauvages ont été menés et ont permis de recenser environ 400 espèces à valeur d'usage [4]. Sur le plan nutritionnel, les champignons forestiers comestibles sont riches en protéines et en fibres, pauvres en lipides et renferment des vitamines et des oligo-éléments importants [5] [6].

Un grand nombre d'espèces de champignons comestibles poussent spontanément sur le bois mort et sur d'autres matières organiques en décomposition, mais souvent en faible quantité et de façon aléatoire [7].

S'agissant en particulier des forêts des zones pré-guinéennes et soudaniennes, plusieurs études ont montré que les ressources naturelles sont très peu valorisées [8].

Ainsi, la valorisation des espèces ligneuses et/ou non-ligneuses issues des forêts des domaines classés ou protégés pourrait servir au renforcement des stratégies et actions de développement des collectivités locales.

En outre, les céréales constituent la base de l'alimentation de plus de 80% de la population au Mali, ce régime alimentaire est caractérisé par sa monotonie en ingrédients de condiments et pauvres en vitamines et autres sources de sels minéraux indispensables pour la croissance des enfants et l'entretien des cellules chez les adultes [8]. En ce sens, la perspective de promotion de la consommation de champignons, riches en protéines, vitamines et sels minéraux, jouerait un rôle alimentaire de premier plan pour les populations rurales.

L'intérêt de cette étude d'innovation est de contribuer à la valorisation locale des protéines fongiques des ressources forestières non ligneuses du Mali par leur culture artificielle pour en disposer en grande

quantité et en toutes saisons. Cette innovation contribuera significativement à réduire la malnutrition notamment au sud Mali où elle affecte 16% des enfants [9].

L'objectif général de cette étude est de contribuer à la caractérisation agronomique de quelques espèces des champignons sauvages comestibles au Mali.

De façon spécifique, il s'agit de :

- Déterminer la croissance radiale de 3 différentes espèces sur le milieu PDA ;
- Déterminer la vitesse de croissance radiale de 3 différentes espèces sur le milieu PDA ;
- Vérifier la production de blanc- mères des souches KD005, KD007, KD008 sur les grains de céréales.

C'est ainsi que nos questions de recherche étaient :

- Est-ce-que le milieu PDA est favorable pour la multiplication des espèces des champignons sauvages comestibles du Mali ?
- Quelles sont les différents substrats végétaux locaux qui favorisent la production des blanc-mères des champignons sauvages comestibles du Mali ?

A la lumière de ce qui précède, nous avons formulé les hypothèses suivantes :

- Le milieu gélosé de dextrose et d'extrait de pomme de terre (PDA) sont des milieux favorables pour la multiplication des souches des champignons sauvages comestibles du Mali.
- Des substrats d'origine végétale favoriseraient la production optimale des blanc-mères des champignons sauvages comestibles du Mali.

2. MATERIELS ET METHODES

2.1. Matériel fongique

Tableau I : Champignons sauvages comestibles du Mali utilisés dans l'étude

<i>N°</i>	<i>Code Collection Nationale de Myciculture</i>	<i>Espèces</i>
<i>01</i>	<i>KD005</i>	<i>Pleurotus populinus</i>
<i>02</i>	<i>KD007</i>	<i>Auricularia cornea</i>
<i>03</i>	<i>KD008</i>	<i>Chlorophillium palaeotropicum</i>

2.2. Matériel végétale

Pour le test de production des blancs de semis, les substrats végétaux suivants ont été testés : grains de sorgho, riz paddy et mil.

2.3. Préparation du milieu de culture

Le milieu de culture pour étudier la croissance radiale des espèces de champignons comestibles a été le Potato Dextrose Agar (PDA ; Merck, Darmstadt, Allemagne). Il a été préparé en se référant à la dose du fabricant (39g/L).

Le mélange a été stérilisé dans l'autoclave à 120°C pendant 20 min. Le milieu est ensuite coulé dans des boîtes de pétri sous hôte lumineuse qui est un milieu stérile. Les boîtes para filmées sont conservées dans une armoire sous température ambiante.

2.4. Croissance des champignons sauvages comestibles sur milieu PDA

Un millimètre d'une culture de 3 mois conservée à 5°C a été utilisé. La pastille a été déposée au milieu d'une boîte de Pétri de 90mm de diamètre. Trois boîtes par souche ont été inoculées [10]. Les boîtes inoculées sont mises en incubation à 25°C sous photopériode de 0h. La croissance radiale a été mesurée chaque 24h jusqu'à colonisation totale de la boîte suivant 2 demi droites perpendiculaires. La vitesse moyenne de croissance des souches a été calculée par le rapport décrit par [11] :

$$VMC = \frac{vf-vi}{tf}$$

2.5. Production du blanc-mère :

Un dispositif Fisher en trois traitements ont été testé en cinq répétitions pour la production de blanc mère :

Traitement 1 : grains de sorgho : les graines sont réparties dans des bocaux (350ml) à raison de 100g en additionnant 1 g de calcaire pour 80mL d'eau distillé. Recouvrir le couvercle des bocaux avec du papier aluminium et le stérilisé pendant 20 mn à 120°C à l'autoclave.

Traitement 2 : grains de mil : conformément aux grains de sorgho

Traitement 3 : riz paddy : conformément aux grains de sorgho avec une quantité d'eau distillée de 120mL

1.6. Inoculation et incubation :

Selon [12], la production des blanc- mères sur des grains de céréales (sorgho, maïs, mil) apparaît comme la technique la plus simple et mieux adaptée aux conditions locales. Cinq pastilles de 1mm des différentes souches ont été ajoutés aux grains de 100 g et vigoureusement retournées dans le bocal à l'aide d'une spatule. Les bocaux ainsi inoculés sont mis en incubation à 20°C ±2 sous photopériode 0h selon la méthode décrite par [13].

2.7. Analyse des résultats

Les données collectées sur 3 variables retenues ont été saisies, vérifiées avec un tableur Excel version 2016. Le même logiciel Excel a servi aussi d'établir les histogrammes.

Les résultats obtenus sont soumis à une analyse statistique de la variance à un seul facteur de classification, cette analyse nous permet de comparer le comportement des souches sur les différents substrats testés. Lorsque cette analyse montre une différence significative, elle est complétée par le test de Student- Newman-Keuls (NK) au seuil de 5%. Le test SNK permet de constituer des groupes homogènes de traitement par comparaison de moyennes. Ces analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel Genstat (Release 12.1).

3. RESULTATS ET DISCUSSIONS

3.1. Résultats

3.1.1. Croissance radiale

La figure 1 illustre les résultats de l'étude de la croissance radiale des différentes souches sur milieu PDA. L'analyse de la variance a montré une différence hautement significative entre les différentes souches pour la croissance radiale et significative par rapport au temps d'incubation sur le milieu PDA (Tableau II).

Les souches locales KD007, KD008 ont obtenu la plus forte croissance radiale 2,53cm suivi 2,45cm en 11 et 8 jours après incubation respectivement tandis que le temps pour la souche de référence KD005 a enregistré une croissance de 1,9cm en / 9jours.

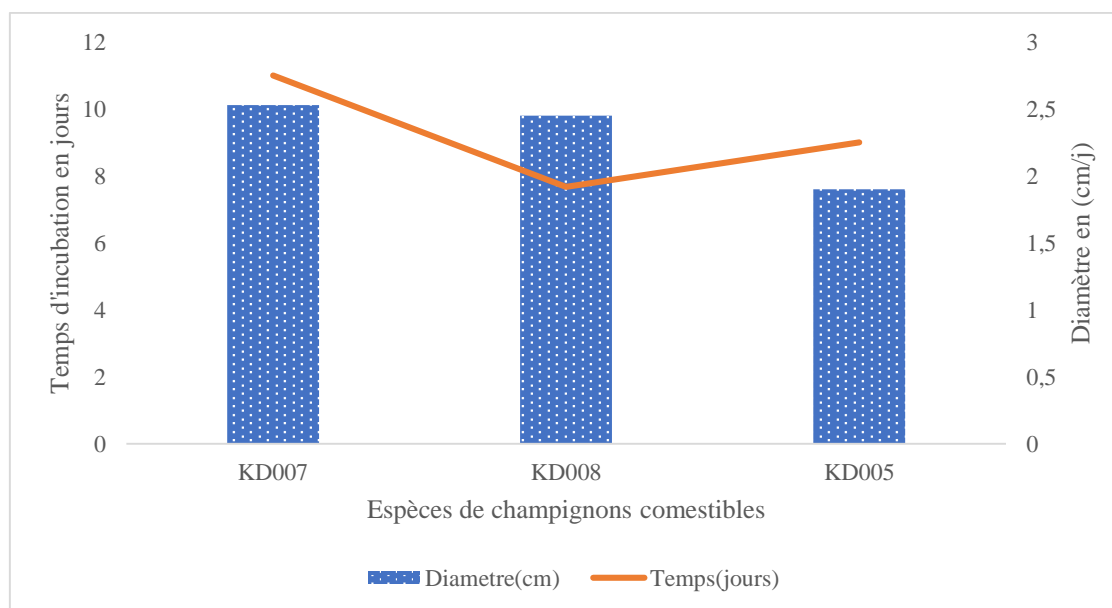


Figure 1 : Moyenne de la Croissance radiale des souches de champignons comestibles sur milieu PDA.

Tableau II : Variables de la croissance radiale des souches de champignons comestibles sur le milieu PDA.

Source	Ddl	s.s	m.s	v.r	Fpr	CV
Croissance Radiale	2	18,4593	0.36563	28.66	<.001	4,9
Temps d'incubation	2	16,889	8,444	7,60	0,023	11,4

ddl : degré de liberté, s.s : somme des carrés, m.s : écart type, v.r : taux des variations, Fpr : F des probabilités, CV : coefficient de variation

3.1.2. Vitesse moyenne de croissance radiale

L'analyse de la variance a montré une vitesse de progression radiale et une différence significative en fonction des différentes souches sur le milieu PDA. Ceci est consigné dans le tableau 3.

Les résultats sur la vitesse moyenne de croissance sont illustrés sur la figure 2. La souche KD008 a obtenu la meilleure vitesse de croissance avec 0,52cm/j. Quant aux souches KD005 (Témoin de référence) et KD007, elles ont enregistré la plus moyenne vitesse de croissance avec respectivement 0,48cm/j et 0,4cm/j.

Tableau III : Analyse des variances de la vitesse moyenne de croissance.

Source	Ddl	s.s	m.s	v.r	Fpr	CV
Vitesse Croissance Radiale	2	0,023489	0,011744	6,48	0,032	9,1

ddl : degré de liberté, s.s : somme des carrés, m.s : écart type, v.r : taux des variations, Fpr : F des probabilités, CV :coefficient de variation

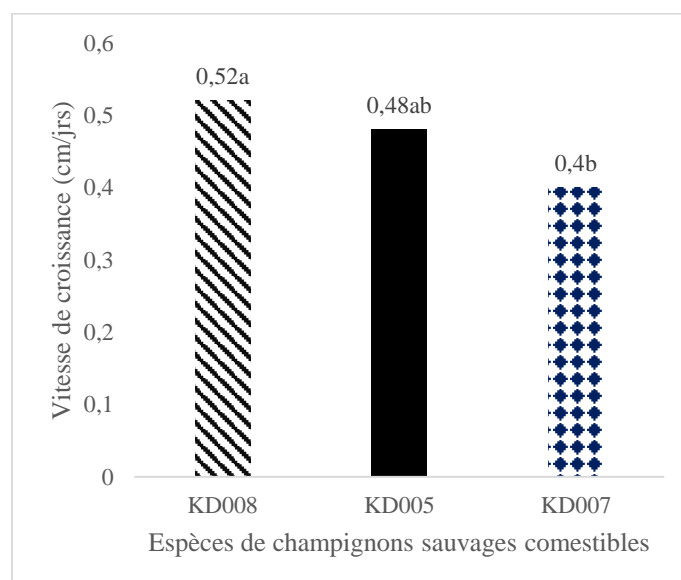


Figure 2 : Vitesse moyenne de croissance radiale des souches de champignons comestibles sur milieu PDA. Les barres verticales représentent les écart-types et les lettres représentent la classification anova.

3.3.3. Production des blanc-mères

L'analyse anova a montré une différence hautement significative entre les souches sur les substrats végétaux et ont obtenu deux groupes statistique homogène.

Les résultats du temps de colonisation des blanc-mères à 50% en fonction des substrats d'origines végétales sont illustrés par la figure 10. Les mycéliums des souches testées ont bien envahi les différents substrats avec un temps de colonisation variant de 3,6 à 12jours.

La souche KD008 a enregistré de meilleur blanc-mère sur le sorgho avec un temps de colonisation de 3,6 jours suivi du témoin KD005 a enregistré de meilleur blanc-mères sur le mil avec un temps de colonisation moyen de 5,6 jours et par contre quant à la souche KD007 a enregistré de meilleur blanc-mère sur le riz paddy avec un temps de colonisation très long 12jours.

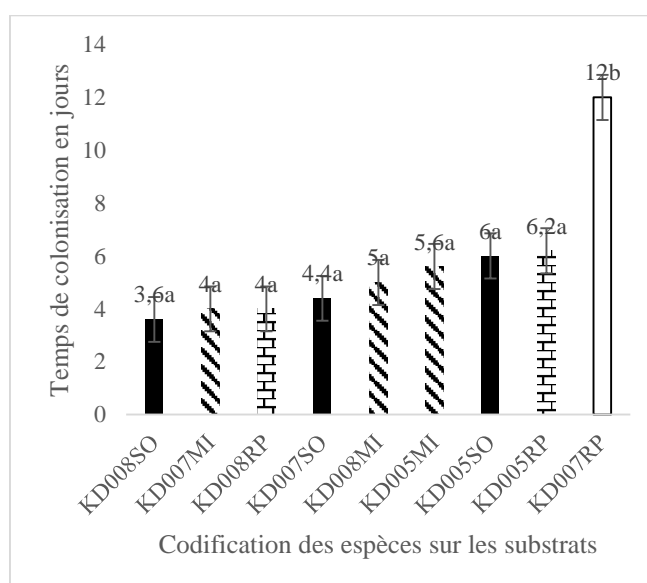


Figure 3 : Temps de colonisation des blanc-mères 50% en fonction des substrats d'origine végétale. *KD007MI: Auricularia cornea sur mil ; KD008SO : Chlorophillium palaeotropicum sur sorgho ; KD005SO : Pleurote geant sur sorgho ; KD005RP : Pleurote geant sur riz paddy ; KD005MI: Pleurote geant sur le substrat mil ; KD007SO : Auricularia cornea sur sorgho ; KD008MI : Chlorophillium palaeotropicum sur mil ; KD008RP : Chlorophillium palaeotropicum sur riz paddy ; KD007RP : Auricularia cornea sur riz paddy.*

Tableau IV : Analyse de variance de la production de blanc mère 50% par les différents substrats végétaux :

Source	ddl	s.s	m.s	v.r	Fpr	CV
Vitesse Croissance Radiale	8	261,911	32,739	13,33	<.001	27,8

ddl: degré de liberté, s.s : somme des carrées, m.s : écart type, v.r : taux des variations, Fpr : F des probabilités, CV :coefficient de variation

L'analyse anova a montré une différence hautement significative entre les souches sur les substrats végétaux et ont a obtenu deux groupes statistique homogène.

Les résultats du temps de colonisation des blanc-mères à 100% en fonction des substrats d'origine végétale sont illustrés par la figure 11. Les mycéliums des souches testées ont bien envahi les différents substrats avec un temps de colonisation variant de 5 à 26 jours. Les blanc-mères testé ont bien envahi les différents substrats avec un temps de colonisation variant. La souche KD008 a enregistré de meilleur blanc-mère sur le sorgho avec un temps de colonisation moyen de 6 jours suivi du témoin KD005 a enregistré de meilleur blanc-mères sur le mil avec un temps de colonisation long de 13 jours et par contre la souche KD007 a enregistré meilleur blanc- mère sur le riz paddy avec un temps de colonisation très long de 26 jours.

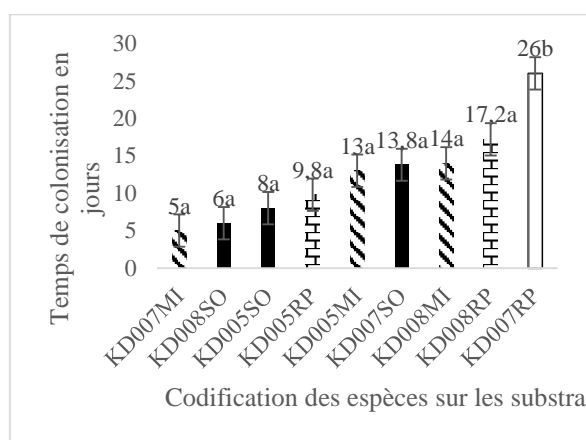


Figure 4 : Temps de colonisation des blanc-mères 100% en fonction des substrats d'origine

Végétale. *KD007MI* : *Auricularia cornea* sur mil ; *KD008SO* : *Chlorophillium palaeotropicum* sur sorgho ; *KD005SO* : *Pleurote geant* sur sorgho ; *KD005RP* : *Pleurote geant* sur riz paddy ; *KD005MI* : *Pleurote geant* sur mil ; *KD007SO* : *Auricularia cornea* sur sorgho ; *KD008MI* : *Chlorophillium palaeotropicum* sur mil ; *KD008RP* : *Chlorophillium palaeotropicum* sur riz paddy ; *KD007RP* : *Auricularia cornea* sur riz paddy.

Tableau V : Analyse de variance de la production de blanc mère 100% par les différents substrats végétaux

Source	Ddl	s.s	m.s	v.r	Fpr	CV
Vitesse Croissance Radiale	8	1672,80	209,10	5,02	<.001	51.5

ddl : degré de liberté, s.s : somme des carrées, m.s : écart type, v.r : taux des variations, Fpr : F des probabilités, CV :coefficient de variation

3.2 Discussion

Les résultats des souches locales KD007 et KD008 qui ont obtenu une plus forte croissance radiale sur PDA sont similaires à ceux de [14] sur la croissance radiale de *Pleurotus citrinopileatus* et d'*Agaricus*

biosporus sur le milieu PDA. Ceci pourrait être dû à une préférence de ces espèces pour le PDA très riche en source de carbone [15].

La souche *Chlorophyllum palaeotropicum* (KD008) a enregistré une vitesse de croissance radiale les plus élevées avec un temps plus court. Ceci est confirmées par les travaux de [16] et [17].

En effet, [18] indique que la température et l'humidité constituent des facteurs déterminants dans la production de mycélium de bonne qualité. Par conséquent, une bonne température garantirait un taux de réussite de semences [19].

Les résultats montrent que la souche KD008 a obtenu de meilleur blanc-mère sur le sorgho à 50 et 100% avec un temps de colonisation court sont proches des résultats obtenus par [20], qui ont démontré une croissance mycélienne élevé dans le substrat de sorgho par rapport aux autres céréales (seigle, riz, le blé, et le maïs) de l'*Agaricusbisporus* cité par [21] et Similaire au résultat de [22] a montré une colonisation de *Pleurotus florida* sur le substrat sorgho au bout de 4j. Ce résultat pourrait être expliqué par l'avantage des céréales qui sont très nourrissants pour les champignons et forment des grains qu'on peut facilement disperser dans le substrat [23].

4. CONCLUSION

La collection des champignons sauvages comestibles lignicoles saprophytes du Mali est riche d'une vingtaine d'espèces issues des forêts soudano sahéliennes du pays. L'objectif principal de cette étude est une contribution à la domestication des champignons sauvages comestibles du Mali.

De façon spécifique, il s'agit de vérifier la capacité de croissance des souches sur milieu gélosé, leur production de blanc-mères sur grains de céréale. Les hypothèses ont été confirmé quant à la multiplication des différentes souches sur le milieu PDA et production des blanc-mère sur les différents substrats végétaux.

Les résultats que nous avons obtenus sont encourageants car ils démontrent que la culture de souches locales de champignons comestibles est possible au Mali où les substrats de production sont diversifiés et disponibles en suffisance.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé grâce à l'appui multiforme et constant du CRRA de Sotuba à travers le staff du Dr Karim DAGNO, particulièrement Seguerema OUOLOGUEME.

REFERENCES

[1] Traoré, M. Evaluation des sous-produits agricoles dans la production des blanc-mères et de carpophores de 4 espèces de champignons sauvages comestibles du Mali. Mémoire de master 2, université nazi Boni de Bobo Dioulasso. (2021) 52p.

- [2] Dagno, K., Traoré, M., Kanté, M. et Dicko, A. 2021. Champignons sauvages comestibles du Mali : Evaluation préliminaire de la production des sporophores de 4 espèces sur substrats lignicoles. 21^{èmes} Journées Scientifiques Annuelles de la SOACHIM Niamey - Niger. (2021).
- [3] Arzani, K et Boussioud C. La multiplication de *Pleurotus ostreatus* sur différents substrats celluloseux issus de déchets agro-alimentaire. Université des frères Mentouri Constantine Faculté des sciences de la Nature et de la vie, Mémoire de Master en science de nature et de la vie ,Algerie. (2018) 44p.
- [4] Fadeyi, GO., Badou, AS., Aignon, L H., Codjia, IEJ., Moutouama, KJ. et Yorou, SN." Etudes ethnomycologiques et identification des champignons sauvages comestibles les plus consommés dans la région des Monts-Kouffè au Bénin (Afrique de l'ouest)". (2017) 29, 93-109.
- [5] Barros L., Baptista P., Correia D. M., Casal S., Oliveira B., Ferreira I. C.F.R. Fatty acid and sugar compositions and nutritional value of five wild edible mushrooms from Northeast Portugal. Food Chem. (2007) 140-145
- [6] Reis F. S., Barros L., Martins A., Ferreira I. C. F. R. Chemical composition and nutritional value of the most widely appreciated cultivated mushrooms: an inter-species comparative study. Food Chem. Toxicol. (2012) 191-197.
- [7] Dagno, K. Consolidation du schéma d'agrégation des agriculteurs familiaux conformément aux règles de l'OHADA. Cas des régions soudano-sahéliennes du Mali. Rapport de stage. Université de Liège, Belgique. (2016) 68p.
- [8] Dicko, A. Tests de production des blancs de semis et de carpophores de 3 espèces de champignons comestibles sauvages de la collection du Mali. Mémoire pour l'obtention du diplôme d'Ingénieur Agronome ; Institut polytechnique rural de formation et de recherche appliquée (ipr/ifra) de katibougou, (2018) 44p
- [9] Instat. Annuaire statistique du Mali. INSTAT-MPP, Bamako, Mali. (2012) 137p.
- [10] Dibaluka, S. M. Lukoki, F. L. De Kesel A. and Degreef J.. *Essais de culture de quelques champignons lignicoles comestibles de la région de Kinshasa (R. D. Congo) sur divers substrats lignocellulosiques*. Biotechnol Agron. Soc. Environ. (2010) 417 -422
- [11] Israel C.M. *Utilization of palmetto residue to produce hydrolytic enzymes by Polyporus fungi (Utilização do resíduo do processamento do palmititeiro para a produção de enzimas hidrolíticas por fungos do gênero Polyporus)*. Master degree project (Dissertação-Mestrado em Engenharia Ambiental) - Centro de Ciências Tecnológicas/Universidade Regional de Blumenau, Blumenau. (2005), 136p.
- [12] Oei P. *La culture des champignons*. Guide technique, Amsterdam, Pays-Bas, CTA, TOOL, FGRET. (1993) 318p.

- [13] Djomene Y.S. Techniques de multiplication du blanc de trois espèces de champignons comestibles du genre pleurotus au Cameroun (Cas de la CoopSDEM COOP-CA). (2018).
- [14] Chaffai B. and Ouchene M. Essai de culture et multiplication de champignon de Paris (*Agaricus bisporus*) et de pleurote jaune (*Pleurotus citrinopileatus*) à l'échelle de laboratoire. Mémoire de master. Faculté Des Sciences Exactes et Des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Larbi Ben Mhidi Oum El Bouaghi. (2019) 29p.
- [15] Perrin, P. W. Long term storage of cultures of wood inhabiting fungi under mineral oil. *Mycologia*. (1979) 71(1): 867.
- [16] Dagno, K. Dicko, A. Kansaye L. and Diourté M. Contribution à la lutte contre l'insécurité alimentaire par la valorisation des champignons sauvages comestibles des zones soudano-sahéliennes du Mali. 20^{èmes} Journées Scientifiques Annuelles de la S.O.A. CHIM 06-09 août. (2019) Bamako – Mali.
- [17] Dibaluka, S.M. Lukoki, F.L. De Kesel A. and Degreef J.. *Essais de culture de quelques champignons lignicoles comestibles de la région de Kinshasa (R. D. Congo) sur divers substrats lignocellulosiques*. Biotechnol Agron. Soc. Environ. (2010) 417 -422.
- [18] Benamar-Mansour. M. *Valorisation de résidus agricoles par la culture de deux souches de champignons comestible du genre Pleurotus*. Thèse de Doctorat, Université Mouloud Mammeri De Tizi-Ouzou, Faculté des sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques Département de Biologie, Algérie. (2016) 257 p.
- [19] Pitta, B.M.S. Yian, G.C. Adjessi, A.B.J.P.E Tiébré. M.S. “ Développement De La Culture Des Champignons Sauvages Comestibles en Côte d'Ivoire : Production Des Semences Et Tests De Croissance Des Carpophores Sur Quatre Substrats Organiques.” *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science (IOSR-JAVS)*, 13(3). (2020) pp. 08-14.
- [20] Kerfez K. and Brik. O. Culture et clonage d'un tissu de champignon de (*Agaricus bisporus*) de paris. (2015).
- [21] Dagno K., Traoré M. and Kanté M. Tests de croissance radiale et production de blanc-mère de quelques champignons sauvages comestibles du Mali. Première Journée Scientifique Du Der De Biologie – Fst/ Usttb, Bamako Mali. (2020) 6p.
- [22] Kachulire P.R. Essai de production et de multiplication du mycélium de *Pleurotus Florida* à partir des spores sur différents milieux de culture à base des ingrédients locaux. ISSN 2028-9324 Vol. 19 No. 3. (2017) 576-586.
- [23] Oei P. et Nieuwenhuijzen B. V. La culture des champignons à petite échelle: Pleurotes, shiitakes et auriculaires, Agromisa/CTA. Wageningen, Pays-Bas. (2005) 86 p.

Etude de la bioaccumulation des métaux lourds, chrome VI et cuivre II, dans les huîtres perlières rayées : *Pinctada imbricata radiata* (Leach, 1814) provenant de la plage de Soubédioune par la spectrophotométrie UV-visible.

Sitor DIOUF¹

Momar NDIAYE¹, Cheikhna DIEBAKATE², Abdoulaye DIOP¹, Ibrahima DIAGNE¹, Birame NDIAYE¹, Dame CISSE¹, Cheikh Tidiane DIONE¹, Maoudo HANE¹, Mame Mor DIONE¹, Ousmane KA¹, Aliou DIA¹.

1 -Faculté des Sciences et Techniques, Laboratoire de Chimie Physique Organique et d'Analyse Environnementale (LCPOAE)-UCAD, Dakar, Sénégal.

2 –Faculté des Sciences et Techniques, Département de Biologie Animale, UCAD, Dakar, Sénégal

Résumé :

Les produits halieutiques sont très appréciés du fait de leur qualité nutritionnelle très importante. Toutefois, la forte anthropisation des littoraux peut affecter la qualité des eaux marines ainsi que les espèces aquatiques. D'où une évaluation du niveau de contamination s'avère une nécessité.

Le but de cette étude est d'évaluer la contamination métallique de la plage de Soubédioune par le dosage des éléments traces comme le Cuivre II et le Chrome IV par la spectrophotométrie UV/Visible à l'aide du photomètre PF-11 dans les huîtres perlières : *Pinctada imbricata radiata*. Les résultats des analyses montrent des teneurs en cuivre et chrome en poids sec valent respectivement en valeur moyenne 25µg/g et 11,72µg/g.

Néanmoins, ces métaux ne font d'objet aucune classification par les instances sanitaires. Cette étude montre que ces organismes filtreurs (huîtres), peuvent bien être utilisés dans le suivi de la pollution marine du fait de leur vie fixe et suspensive les conférant la possibilité de bioaccumuler et de bioconcentrer les polluants. Aussi, elle prouve les risques sanitaires liés à la consommation des produits halieutiques provenant du littoral Dakarais. Ainsi, une étude d'autres contaminants plus toxique tels que les composés organiques dans les huîtres est envisagée.

Mots Clés : huîtres, photométrie, cuivre, chrome.

Study of the bioaccumulation of heavy metals, chromium VI and copper II, in striped pearl oysters: *Pinctada imbricata radiata* (Leach, 1814) from the Soubédioune beach by UV-visible spectrophotometry.

Abstract

Fish products are very popular because of their very high nutritional quality. However, the strong anthropization of the coasts can affect the quality of marine waters as well as aquatic species. Hence an assessment of the level of contamination is a necessity.

The aim of this study is to assess the metal contamination of the Soumbédioune beach by measuring trace elements such as Copper II and Chromium IV by UV/Visible spectrophotometry using the PF-11 photometer in pearl oysters : *Pinctada imbricata radiata*. The results of the analyzes show the contents of copper and chromium by dry weight with an average value of 25 µg/g and 11.72 µg/g respectively.

However, these metals are not subject to any classification by health authorities. This study shows that these filtering organisms (oysters) can be used in the monitoring of marine pollution because of their fixed and suspensive life giving them the possibility of bioaccumulating and bioconcentrating pollutants. Also, it proves the health risks associated with the consumption of fish products from the Dakar coast. Thus, a study of other more toxic contaminants such as organic compounds in oysters is planned.

Keywords: oysters, photometry, copper, chrome.

1. Introduction

La croissance démographique et industrielle a entraîné la dispersion des agents polluants depuis l'extraction jusqu'à l'usage domestique. Cette forte anthropisation, vecteur de contamination, met en péril les écosystèmes. Ceux estuariens représentent les principales zones de transit des polluants. [1-2].

Au Sénégal, particulièrement au niveau de la presqu'île de Dakar, la contamination par les métaux lourds constitue un facteur endommageant les écosystèmes marins [3].

Les métaux lourds, dont certains ont un rôle biologique important et d'autres néfastes, peuvent être présents chez les espèces aquatiques comme les huîtres. En effet, exposés aux polluants, les mollusques peuvent les rejeter dans leurs pseudo-fèces, sans métabolisme. Cependant, ils peuvent également les métaboliser et rejeter les sous-produits, ou les assimiler dans leurs tissus, voire dans leurs cellules [1]. Ces organismes, filtreurs et sédentaires, possèdent ainsi la propriété d'accumuler les contaminants dans leurs tissus en proportion importante avec leur biodisponibilité dans le milieu. Il en résulte un pseudo-équilibre d'échanges entre mollusque et environnement, basé sur les processus d'absorption, excrétion et accumulation [4,5].

Ainsi, la toxicité de ces métaux est renforcée par les phénomènes de bioaccumulation et de bioconcentration chez les mollusques filtreurs qui peuvent parvenir à l'homme par le biais de la chaîne alimentaire.

Par ailleurs, il paraît crucial voire primordial d'étudier la contamination du milieu marin afin de prévoir ou d'illustrer les risques sanitaires liés à la consommation des produits halieutiques ou à la contamination des écosystèmes. L'opportunité d'une telle étude procède du manque de données sur la pollution par les métaux lourds dans les produits halieutiques comme les huîtres.

Le but de ce présent travail est de déterminer la teneur des métaux lourds, Chrome (Cr VI) et Cuivre (Cu II), dans les huîtres perlières rayées provenant de la plage de Soumbédioune, située sur la corniche ouest de la région de Dakar.

Références

- [1] Lescroart M., (2017) Les huitres ? 60 clés pour les comprendre, Edition Quae, p 98-99
- [2] Marchand M, Martin. J-L., (1985) Détermination de la pollution chimique (hydrocarbures, organochlorés, métaux) dans la lagune d'Abidjan (côte d'ivoire) par l'étude des sédiments, Océanographie tropical, 20 (1), p 25-39.
- [3] KANE A., (2014) programme d'action mondiale pour la protection du milieu marin contre la pollution due aux activités terrestres : le cas du Sénégal, UCAD, Département de Géographie, 51p.
- [4] Derbali A, Kandeel E. Kandeel, Jarboui O., (2009) Comparison of the Dynamics between Coastal and Midshore Populations of *Pinctada radiata* (Leach, 1814) (Mollusca: Bivalvia) in the Gulf of Gabes, Tunisia, Turc. J. Fish. & Aquat. Sci., 20 (4), p 301- 310.
- [5] Rym B. A., (2009) Mémoire de Master : Etude des effets de la stérilisation aux rayons gamma sur un biomatériau potentiel de substitution osseuse : la nacre de *pinctada radiata* (Leach, 1814), 101p.

2. Matériel et méthodes (Times New Roman 11 normal)

1-1) Site d'étude : Soumbédioune

Le littoral du Sénégal subit de nombreuses agressions humaines liées notamment au développement croissant des activités socio-économiques telles que l'industrie, l'habitat, la pêche, le tourisme, etc. Cela fait de la mer un réceptacle quotidien des polluants. C'est dans ce sillage de pollution que nous nous proposons d'étudier la bioaccumulation des métaux lourds (fer, chrome, cuivre et zinc) dans les huîtres perlières rayées provenant du quai de pêche de Soumbédioune.

Soumbédioune est un lieu touristique dont la principale activité est la pêche. Elle se situe sur la corniche ouest de la région de Dakar (fig. 1). De cette localité débouche le canal IV ou Ouest.

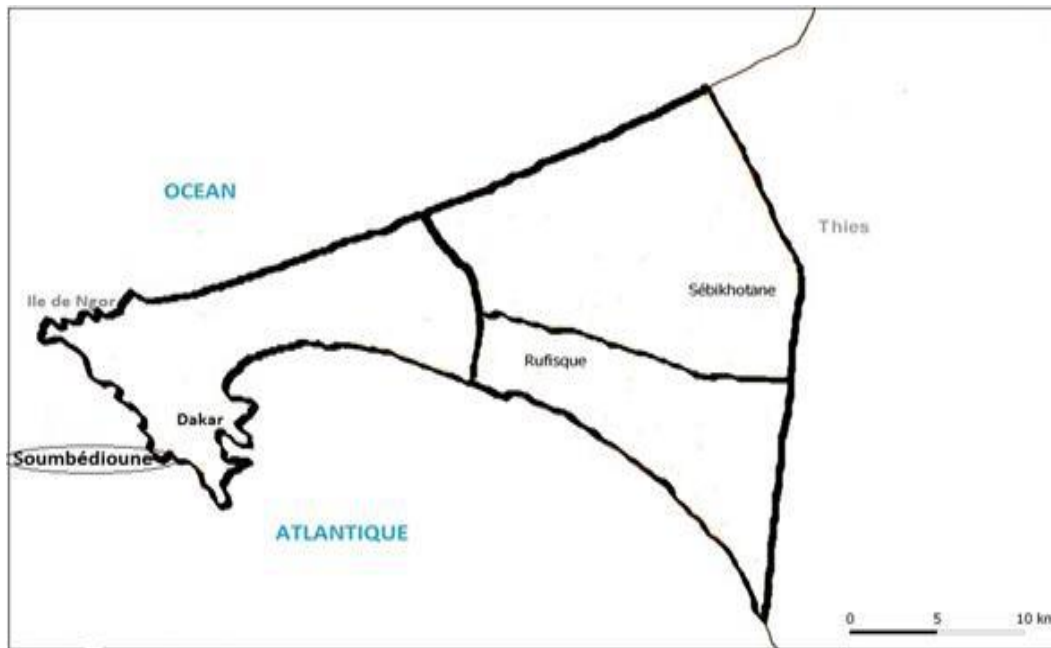


Figure 1: Site de prélèvement des échantillons d'huîtres perlières rayées (Soubédioune)

1-2) Prélèvement et traitement des échantillons

➤ Echantillonnage

Les échantillons d'huîtres perlières sont au nombre de dix et ont été récoltés sur la plage de Soubédioune (fig. 1). Les spécimens ont été acheminés au laboratoire dans des sachets en plastiques où ils sont conservés au réfrigérateur à - 20 °C avant d'être préparés.

➤ Mensurations

Les échantillons préalablement conservés sont décongelés avant de procéder aux mensurations.

Les largeurs, hauteurs et renflements ont été pris grâce à « un pied à coulisse à vernier » et les masses à l'aide d'une balance électronique de précision.

Ces mensurations nous permettent d'avoir les paramètres biométriques de l'espèce, plus précisément une idée sur la taille à défaut de l'âge de l'individu.

Ainsi, pour les analyses, toute la chaire et les organes ont été pris.

Le tableau I présente les paramètres biométriques obtenus par mensuration.

Date de prélèvement : 18/01/2020

Localité : Soumbédioune

Nom scientifique : *Pinctada imbricata radiata* (Leach 1814)

Tableau I : Paramètres biométriques de l'espèce *Pinctada imbricata radiata*

Spécimens (huître)	Largeur (cm)	Hauteur (cm)	Renflement (cm)	Poids total (g)	Poids chair + organes humides (g)	Poids chair + organes secs (g)	Teneur en eau (%)	Nombre de perle
N° 1	7,2	7,9	2,7	56,13	24,22	5,10	78,94	0
N° 2	7,5	7,9	2,8	66,02	24,73	6,30	74,52	0
N° 3	6,4	7,6	2,9	64,25	27,25	6,51	76,11	0
N° 4	6,9	8,0	2,8	72,78	29,48	8,30	71,84	0
N° 5	5,9	7,4	3,1	64,5	22,29	5,72	74,33	0
N° 6	5,7	7,0	2,8	47,26	20,66	6,43	68,88	0
N° 7	6,0	6,9	2,3	51,67	21,13	4,88	76,90	0
N° 8	6,6	8,2	2,6	57,62	22,59	7,42	67,15	0
N° 9	6,0	6,2	2,7	40,08	16,13	4,10	74,58	0
N° 10	6,4	7,3	3,1	55,80	24,05	7,20	70,06	0

➤ **Traitement chimique**

Après les mensurations, les échantillons, mis dans des capsules en verre, sont placés dans une étuve portée à 60°C pendant deux jours. Ce séchage va permettre le broyage des échantillons grâce à un mortier en porcelaine afin d'obtenir de la poudre fine, puis leur conservation dans des sachets en plastique.

Pour procéder à l'analyse, une minéralisation des échantillons est d'abord effectuée. Elle consiste à faire, à l'aide d'une spatule et d'une balance électronique de précision, des pesées de 0,4 g. Ces masses sont ensuite introduites dans des capsules en verre. Un volume de 2 mL d'acide nitrique (HNO₃) concentrée (14 N) est mis dans chaque capsule. Les produits ainsi obtenus sont placés dans l'étuve, portée à 80°C, pendant 40 à 60 minutes afin de vaporiser totalement l'acide.

Après la minéralisation, les produits sont récupérés dans des fioles jaugées de 50 mL complétés avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge.

Ainsi, la lecture est faite par photométrie grâce au photomètre PF – 11.

1-3) Méthode d'analyse

L'analyse des métaux (Cr^{6+} et Cu^{2+}) dans les huîtres (*Pinctada imbricata radiata*) a été réalisée au Laboratoire de Chimie Physique Organique d'Analyse Environnementale (LCPOAE) de la Faculté des Sciences et Techniques de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar (UCAD).

Les analyses ont été réalisées par spectrophométrie UV-Visible à l'aide du photomètre PF-11.

Pour les mesures à effectuer, il existe pour chaque élément chimique une limite de quantification (LQ) ou plage de quantification. Lorsque la teneur est supérieure à la limite de quantification, une dilution est faite avant d'effectuer une nouvelle mesure. Dans ce travail les limites de quantification des métaux étudiés sont consignées dans le tableau suivant (Tableau II) :

Tableau II : Limites de quantification (LQ) des métaux lourds étudiés.

Métaux lourds étudiés	Limite de quantification
Chrome	0,02 – 0,5mg/L
Cuivre	0,2 – 1,5mg/L

3. Résultats et discussion (Times New Roman 11 normal)

Dix spécimens d'huîtres ont été analysés. Les résultats révélés sont variables en concentration de métaux lourds étudiés. Le tableau III présente les teneurs (en partie par million et en microgramme par gramme de poids sec) Cuivre II et Chrome VI mesurées lors de cette campagne effectuée au niveau de la plage de Soubédioune.

Tableau III : Teneurs en métaux lourds étudiés dans les huîtres de Soubédioune.

Paramètres	Cu^{2+}	Cr^{6+}
Spécimens	$\mu\text{g/g}$	$\mu\text{g/g}$
n° 1	< LQ	11,25
n° 2	25	11,25
n° 3	25	18,75
n° 4	25	10
n° 5	25	11,25
n° 6	< LQ	10
n° 7	25	12,5
n° 8	< LQ	< LQ
n° 9	25	8,75
n° 10	< LQ	< LQ
Moyenne	25	11,72

3.1. Premier sous-titre

Etude de la variation des teneurs des métaux dans les huitres.

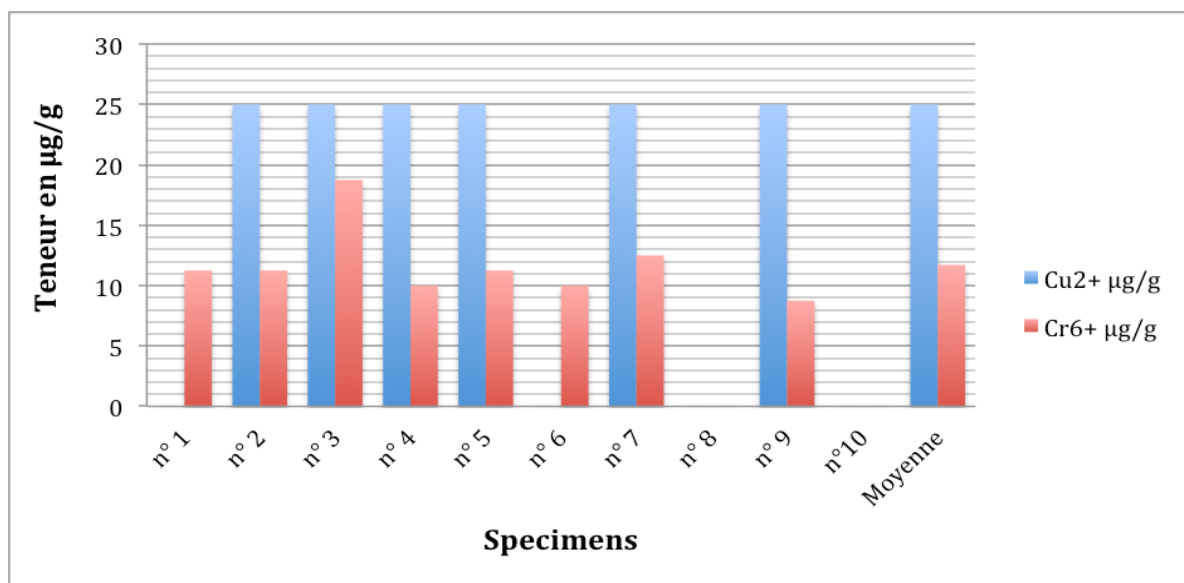


Figure 1: Évaluation de la teneur des métaux Cu II et Cr VI dans les huitres

3.2. Deuxième sous-titre :

Etude comparative de la bioaccumulation chez les huitres, les poissons et dans les sédiments provenant de la plage de Soubédioune.

Tableau IV : Teneurs des métaux lourds étudiés dans les différentes matrices.

Paramètres	Cu ²⁺ (µg/g)	Cr ⁶⁺ (µg/g)
Matrices		
Sédiments	90,6	45,4
Poissons (<i>Pagellus bellottii</i>)	< LQ	11,6
Huitres	25	11,72

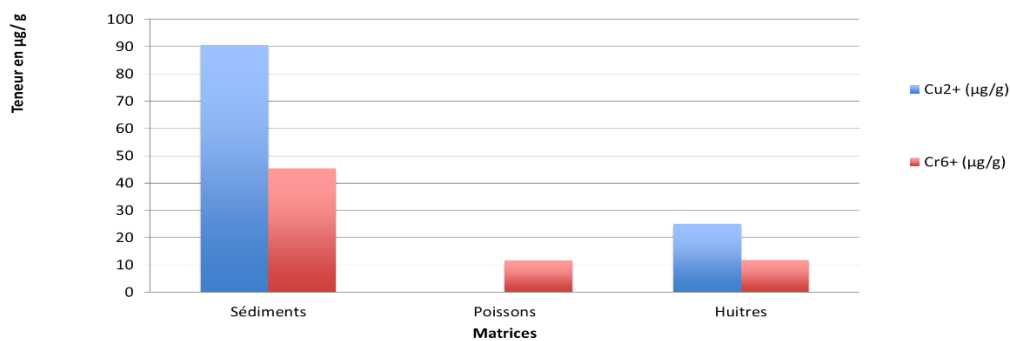


Figure 2 : Etude comparative de la variation des métaux Cu II et Cr VI dans les différentes matrices.

4. Conclusion

En définitive, les résultats obtenus montrent que les huîtres peuvent être utilisées comme bioindicateurs dans le suivi de la contamination en milieu marin. Les teneurs en poids sec dans les huîtres sont supérieures aux valeurs de références de toxicologies. L'hypothèse émise est que : les eaux usées que reçoit cette plage quotidiennement peuvent influencer ces teneurs.

5. Bibliographie

- [1] Lescroart M., (2017) Les huitres ? 60 clés pour les comprendre, Edition Quae, p 98-99
- [2] Marchand M, Martin. J-L., (1985) Détermination de la pollution chimique (hydrocarbures, organochlorés, métaux) dans la lagune d'Abidjan (côte d'ivoire) par l'étude des sédiments, Océanographie tropical, 20 (1), p 25-39.
- [3] KANE A., (2014) programme d'action mondiale pour la protection du milieu marin contre la pollution due aux activités terrestres : le cas du Sénégal, UCAD, Département de Géographie, 51p.
- [4] Derbali A, Kandeel E. Kandeel, Jarboui O., (2009) Comparison of the Dynamics between Coastal and Midshore Populations of *Pinctada radiata* (Leach, 1814) (Mollusca: Bivalvia) in the Gulf of Gabes, Tunisia, Turc. J. Fish. & Aquat. Sci., 20 (4), p 301- 310.
- [5] Rym B. A., (2009) Mémoire de Master : Etude des effets de la stérilisation aux rayons gamma sur un biomatériau potentiel de substitution osseuse : la nacre de *pinctada radiata* (Leach, 1814), 101p.

Efficacy test of *Melaleuca leucadendra* and *Callistemon viminalis* essential oils on in vitro control of a strain of *Aspergillus flavus* isolated from peanut seeds in Senegal

Youssoupha DIOP^{1*}, Abdoulaye FAYE², Diégane SARR¹, Atanasse COLY³, Saliou NGOM⁴

¹*Alioune Diop University of Bambey, UFR SATIC, EMEPA, Website: www.uadb.edu.sn, BP 30 Bambey, Senegal*

²*Directorate of Plant Protection (DPV), Laboratory of Phytopathology; BP: 20054 Thiaroye, Senegal*

³*Cheikh Anta Diop University of Dakar (UCAD)/Faculty of Science and Technology/Laboratory of Phytochemistry and Analysis (LPA), BP: 5005 Dakar-Fann.*

⁴*Senegalese Institute of Agricultural Research (ISRA), Routes des hydrocarbures BP: 3120 Dakar.*

Résumé :

Cette étude consiste en un test d'efficacité des huiles essentielles de deux espèces végétales de la famille des Myrtaceae (*Melaleuca leucadendra* et *Callistemon viminalis*) sur le contrôle in vitro d'une souche d'*Aspergillus flavus* potentiellement aflatoxinogène isolé à partir de graines d'arachide au Sénégal. Pour ce faire, différentes doses (750, 500, 250 et 100 ppm) de chaque huile ont été associées au milieu de culture Czapek Yeast Extract Agar (CYA) et au développement de la souche sur les différents milieux de culture a été suivie pendant 7 jours, après quoi la croissance mycélienne (moyenne diamètre) et la densité de sporulation (nombre moyen de conidies par mm²) ont été évalués dans les 4 répétitions de chaque traitement. Les résultats ont montré que l'huile essentielle de *C. viminalis* à la dose la plus élevée de 750 ppm (T5) était plus efficace, juste après le Mancozèbe à 500 ppm (T9) utilisé comme témoin de référence, sans différence significative. Ce T5 a été suivi de près par le T6 (*Callistemon* 500 ppm), T1 (*Melaleuca* 750 ppm) et T2 (*Melaleuca* 500 ppm) sur l'inhibition de la croissance et de la reproduction des champignons.

Mots clés: Huiles essentielles, *Callistemon viminalis*, *Melaleuca leucadendra*, *Aspergillus flavus*, Sénégal

Abstract :

This study consists of an efficacy test of essential oils of two plant species of the Myrtaceae family (*Melaleuca leucadendra* and *Callistemon viminalis*) on the in vitro control of a strain of *Aspergillus flavus* potentially aflatoxinogen isolated from peanut seeds in Senegal. To do this, different doses (750, 500, 250 and 100 ppm) of each oil were associated with the culture medium Czapek Yeast Extract Agar (CYA) and the development of the strain on the different culture media was followed for 7 days, after which the mycelial growth (mean colony diameter) and the sporulation density (average number of conidia per mm²) were evaluated in the 4 repetitions of each treatment. The results showed that *C.*

viminalis essential oil at the higher dose of 750 ppm (T5) was found to be more effective, just after Mancozeb at 500 ppm (T9) used as the reference control, with no significant difference. This T5 was closely followed by the T6 (Callistemon 500 ppm), T1 (Melaleuca 750 ppm) and T2 (Melaleuca 500 ppm) treatments on the inhibition of fungus growth and reproduction.

Keywords : Essential oils, *Callistemon viminalis*, *Melaleuca lecadendra*, *Aspergillus flavus*, Senegal

1. Introduction

L'arachide et ses produits dérivés constituent des aliments de base très appréciés en Afrique. Elle est également une denrée qui fait l'objet de plusieurs transactions internationales et génèrent beaucoup de revenus aux producteurs et autres opérateurs. Au Sénégal, l'arachide demeure l'une des principales cultures oléagineuses et un produit de rente pour les agriculteurs, qui s'activent de plus en plus dans l'exportation des graines, notamment vers la Chine. En 2021, les exportations de graines d'arachide ont atteint un volume de 319.000 tonnes et généré près de 138 milliards de FCFA dans l'économie sénégalaise. Cependant, la présence de l'aflatoxine dans les graines constitue une entrave considérable à l'export et un risque majeur de santé publique. En effet, les aflatoxines sont les mycotoxines les plus toxiques connues à ce jour. Ce sont des métabolites secondaires produits principalement par des souches de champignons *Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus* [1]. Selon l'OMS en 2018, le stress dû à la sécheresse, les dommages causés par les insectes et les mauvaises conditions de stockage contribuent fortement à l'apparition plus fréquente de ces moisissures et à la contamination des arachides à l'aflatoxine, y compris dans les régions tempérées. Il existe différents types d'aflatoxines détectés dans les aliments (B1, B2, G1 et G2), les formes B étant 10 à 50 fois plus toxiques que les formes G, et l'Aflatoxine B1 reconnue comme la plus toxique de toutes. Les aflatoxines M1 et M2 sont des dérivés des aflatoxines B1 et B2 [2] et se retrouvent généralement dans le lait et les produits laitiers. En plus, les aflatoxines sont connus pour détenir des propriétés cancérigènes [3], leur ingestion à haute dose pouvant provoquer d'importants troubles hépatiques (jaunisse, cirrhose, nécrose, cancer du foie), rénaux et pulmonaires, une diarrhée et une anorexie qui peuvent entraîner la mort. Vu le risque grave des aflatoxines sur la santé humaine et animale, le nombre des pays qui réglementent ces substances augmente sensiblement au fil des années. Or les *Aspergillus* qui les produisent sont des ascomycètes cosmopolites saprophytes qui prolifèrent facilement sur les substrats organiques et les matières mortes. L'espèce la plus importante, *Aspergillus flavus*, est une moisissure très répandue dans les zones tropicales et susceptible de contaminer plusieurs aliments. Toutefois, l'aptitude à la sécrétion d'aflatoxine dépend de la souche et des conditions climatiques ambiantes, notamment la température et l'humidité. Ainsi, la nécessité de combattre les aflatoxines impliquerait celle mettre en place des méthodes efficaces de contrôle du développement des champignons qui sont à l'origine de leur sécrétion. Dans ce cadre s'inscrit cette étude qui a pour objectif d'évaluer l'efficacité de différentes concentrations des huiles essentielles de *Melaleuca leucadendra* et de *Callistemon viminalis* sur le contrôle *in vitro* d'une souche d'*Aspergillus flavus* isolée de graines d'arachide au Sénégal.

2. Matériel et méthodes

2.1. La souche d'*Aspergillus flavus*

La souche (K13) utilisée dans cette étude a été isolée en 2020 au Laboratoire de Phytopathologie de la Direction de la Protection des Végétaux (DPV) du Sénégal à partir d'un échantillon de graines d'arachide prélevé de Kaolack (zone agro écologique du bassin arachidier). Cette souche apparaît sur CYA en colonie verte homogène sans sclérotés, envers jaune sombre tirant au gris (Photo 1), tête conidienne bisériée. A 7 jours de culture, le diamètre moyen de la colonie est de 9 cm et le nombre moyen de spores par mm² de 486,75. Sur G25N, la souche présente une colonie verte sombre avec une bordure blanchâtre et un diamètre moyen de 5,5 cm après 7 jours de culture.

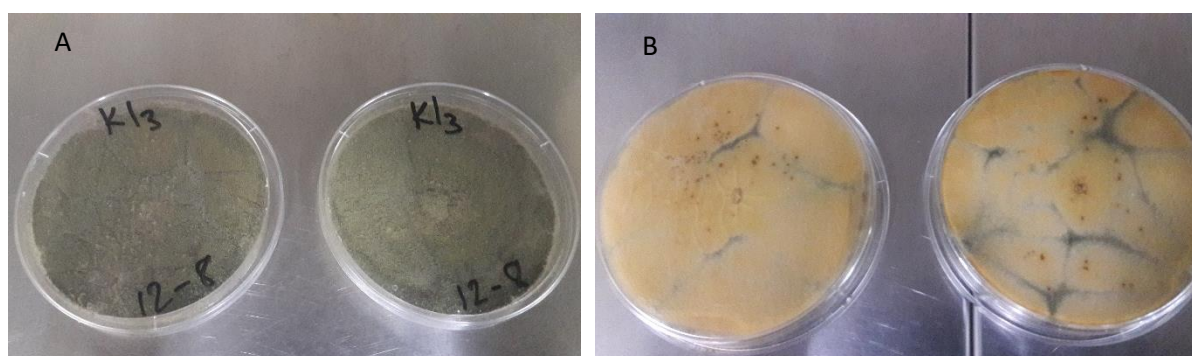


Photo 1. Illustration macroscopique de la souche d'*A. flavus* K13 sur CYA (7 jours)

A : face ; B : envers

2.2. Matériel de traitement : les huiles essentielles

Les huiles essentielles de *Meulaleuca leucadendra* et de *Callistemon viminalis* utilisées dans cette étude ont été extraites à l'Institut Sénégalais de Recherches Agricoles par entraînement à la vapeur. Ce sont 2 espèces végétales appartenant à la famille des Myrtacées et originaires d'Australie. Dans la composition de l'huile essentielle de *M. leucadendra*, 43 constituants chimiques ont été identifiés, dont l'Eucalyptol encore appelé 1,8-cineole (28,87%), Epiglobulol (23,06%), α -pinene (12,22%), Limonene (11,65%) et α -terpineol (7,06%) sont les principaux [4] (Fall *et al.*, 2017). Dans celle de *C. viminalis*, les principaux constituants sont : 1,8-cinéole (58,49%), 3-carène (8,61%), Limonène (7,01%), α -terpinol (5,83%).

2.3. Traitements et incubation

Un prélèvement d'1 ml de chaque huile a été soumis à une série de dilutions dans 9 ml d'eau distillée stérilisée puis ajoutée à différentes proportions dans le milieu de culture Czapek Yeast Extract Agar (CYA) constitué de K₂HPO₄ (1 g), Czapek concentré (10 ml), solution de métaux (1 ml), extrait de levure (5 g), saccharose (30 g), agar-agar (15 g), eau distillée (1 L), juste avant son coulage en boîtes de Pétri, en conditions stériles. A 25°C, des portions circulaires de 0,6 cm de diamètre ont été prélevées des cultures âgées de 5 jours et déposées de manière centrale dans les boîtes contenant les milieux de

culture imprégnés des différentes concentrations (750, 500, 250 et 100 ppm) d'huile essentielle de *M. leucadendra* ou de *C. viminalis* (Tableau 1). Le CYA imprégné de Mancozeb à la dose de 500 ppm a été utilisé comme témoin de référence.

Tableau 1. Présentation des différents traitements appliqués

<i>Code du traitement</i>	<i>Produit</i>	<i>Dose (ppm)</i>	<i>Statut dans l'étude</i>
T0	-	-	Témoin absolu
T1		750	
T2	Huile essentielle de <i>M.</i>	500	
T3	<i>leucadendra</i>	250	
T4		100	Testés
T5	Huile essentielle de <i>C.</i>	750	
T6	<i>viminalis</i>	500	
T7		250	
T8		100	
T9	Mancozeb	500	Témoin de référence

2.4. Paramètres évalués et méthodes d'évaluation

La croissance mycélienne a été suivie dans toutes les boîtes de culture grâce à des mesures quotidiennes du diamètre de la colonie fongique, à l'aide d'une règle graduée. Après 7 jours de culture, des prélèvements issus des différents traitements ont placés sur lame millimétrée et observés au microscope optique pour le dénombrement des spores. Les taux d'inhibition (TI) de la croissance mycélienne et de la sporulation ont été calculés en utilisant la formule :

$$TI (\%) = \frac{NT0 - NT}{NT0} * 100$$

avec NT0 = nombre de spores ou diamètre de la colonie dans le témoin ; NT = nombre de spores ou diamètre de la colonie dans le traité.

2.5. Analyses statistiques

Les données collectées sur cette étude ont été saisies sur le logiciel Excel, qui a également permis de les exprimer graphiquement. Elles ont été soumises à des analyses statistiques en utilisant le logiciel Costat version 7.2. Une analyse de variance et une comparaison des moyennes ont été faites entre les différents traitements sur l'évolution du diamètre de la colonie mycélienne de la souche d'*Aspergillus* et le nombre de spores par mm², en utilisant le test de Student-Newman-Keuls au seuil de 5%.

3. Résultats et Discussion

3.1. Impact des huiles essentielles sur le développement mycélien et la sporulation de la souche d'*Aspergillus flavus*

L'application des différentes doses d'huile essentielle de *M. leucadendra* ou de *C. viminalis* ont permis de réduire significativement ($p < 0,000$) la croissance mycélienne et la densité de sporulation de la

souche d'*Aspergillus flavus* par rapport au témoin absolu (sans traitement du milieu). Concernant la croissance mycélienne du champignon, le taux d'inhibition le plus élevé (92%) a été obtenu avec le témoin de référence T9 (Mancozeb 500 ppm), suivi de près par les traitements T5 (*Callistemon* 750 ppm), T2 (*Melaleuca* 500 ppm) et T6 (*Callistemon* 500 ppm) avec respectivement 90,88%, 88,88% et 87,77% d'inhibition (Tableau 2), sans différence statistiquement significative (Figure 1).

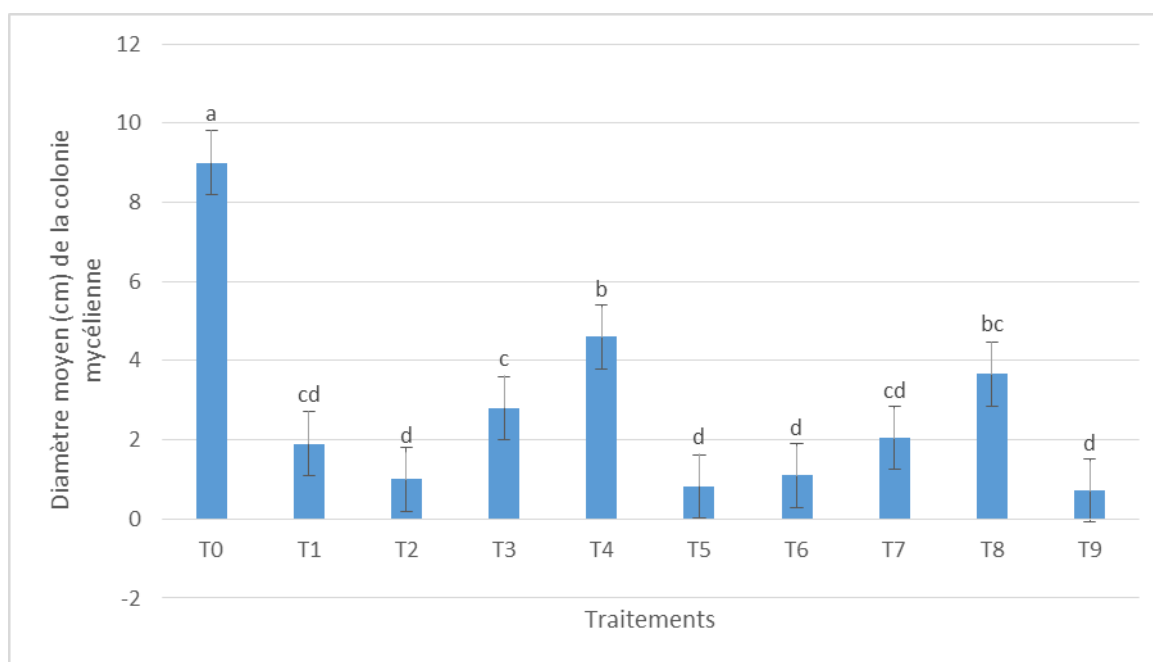


Figure 1. Variation du diamètre de la colonie mycélienne de la souche d'*Aspergillus flavus* K13 après 7 jours d'incubation en fonction des traitements

De même, pour ce qui concerne la sporulation du champignon, la plus forte réduction a été obtenue avec le témoin de référence T9 (Mancozeb 500 ppm) avec 97,81% d'inhibition, suivi du traitement T5 (*Callistemon* 750 ppm) avec 94,47% (soit en moyennes 31,55 spores par mm² contre 570,66 spores par mm² chez le Témoin absolu T0). Les traitements T6 (*Callistemon* 500 ppm) et T1 (*Melaleuca* 750 ppm) ont permis d'enregistrer respectivement 91,26% et 90,34% d'inhibition (Tableau 2), sans différence significative (Figure 2). Les analyses statistiques montrent également qu'il n'y a pas de différence assez significative entre le traitement T5 et le témoin de référence T9 sur le taux d'inhibition de la sporulation de la souche fongique.

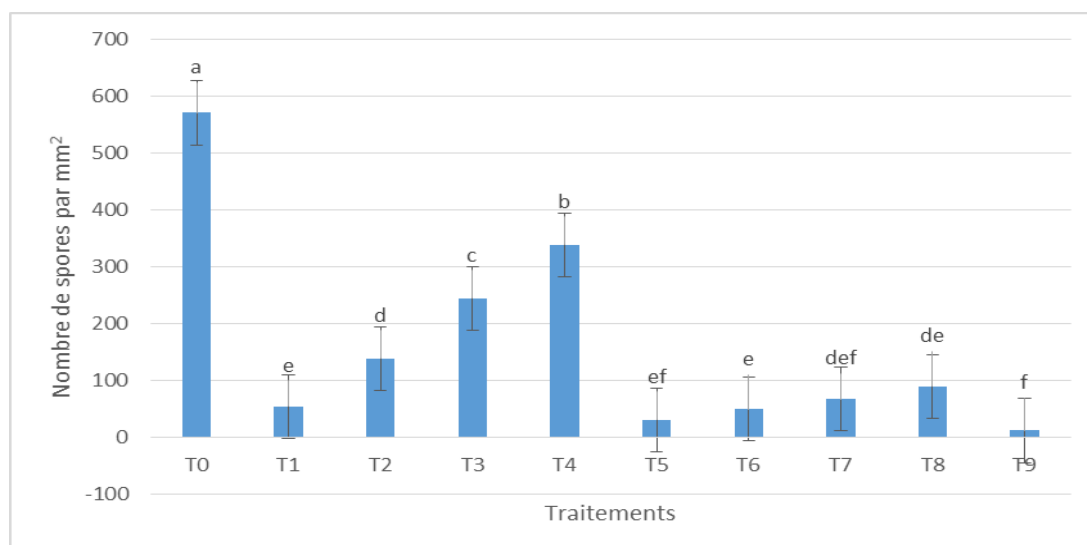


Figure 2. Variation du nombre de spores produites par la souche d'*Aspergillus flavus* K13 après 7 jours d'incubation en fonction des traitements

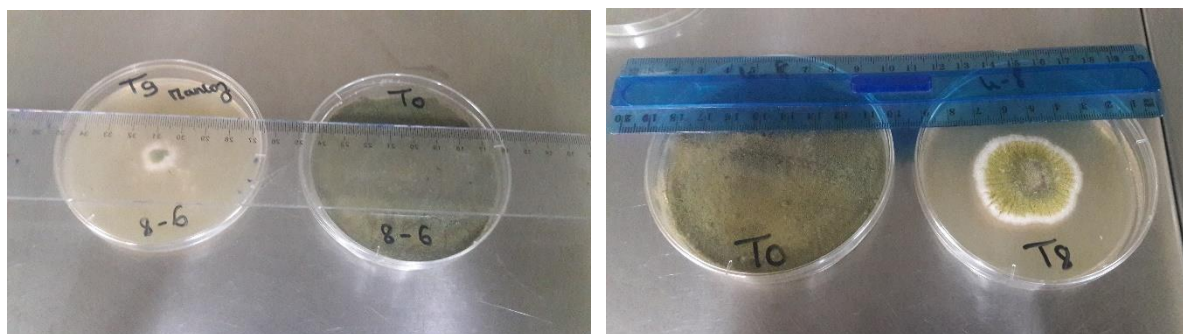


Photo 2. Illustration de l'impact des traitements sur la la croissance mycélienne de la souche fongique

Tableau 2. Variation des taux d'inhibition de la croissance mycélienne et de la sporulation de la souche d'*Aspergillus flavus* K13 en fonction des traitements

<i>Traitements</i>	<i>Taux d'inhibition (%)</i>	
	<i>Croissance mycélienne</i>	<i>Sporulation</i>
T0 (aucun)	0	0
T1 (<i>Melaleuca</i> 750 ppm)	78,8	90,34
T2 (<i>Melaleuca</i> 500 ppm)	89	75,70
T3 (<i>Melaleuca</i> 250 ppm)	68,9	57,09
T4 (<i>Melaleuca</i> 100 ppm)	50,01	40,65
T5 (<i>Callistemon</i> 750 ppm)	90,88	94,47
T6 (<i>Callistemon</i> 500 ppm)	87,77	91,26
T7 (<i>Callistemon</i> 250 ppm)	77,22	88,17
T8 (<i>Callistemon</i> 100 ppm)	59,3	84,17
T9 (Mancozeb 500 ppm)	92	97,81

L'huile essentielle de *C. viminalis* s'est révélée nettement plus efficace que celle de *M. leucadendra* sur le contrôle *in vitro* de la souche d'*A. flavus* mise en étude. Aussi, l'intensité d'inhibition du développement du champignon est apparue dépendante de la dose d'huile essentielle appliquée dans le milieu de culture. Dans nos conditions expérimentales, nous avons pu constater que parmi les traitements testés, la plus forte concentration d'huile de *C. viminalis* (T5) a permis d'obtenir les taux d'inhibition de la croissance mycélienne et de la production de conidies les plus élevés avec respectivement 90,88% et 94,47%. La différence du niveau d'efficacité notée entre les 2 huiles essentielles trouverait son explication dans leur composition en éléments chimiques. En effet, l'huile essentielle de *C. viminalis* est naturellement plus riche que celle de *M. leucadendra* en Eucalyptol encore appelé 1,8-cineole (58,49% contre 28,87%). Le 1,8-cineole est un oxyde terpénique de formule brute C₁₀H₁₈O. C'est un composé naturel majoritaire de nombreuses huiles essentielles et aurait un effet inhibiteur sur le processus de reproduction des champignons. Selon Cette observation est en adéquation avec celle de Ndomo *et al.* (2009) selon qui les effets toxiques et répulsifs de l'huile essentielle de *C. viminalis* pourraient dépendre de sa composition chimique, qui dépend elle-même de l'environnement de la plante. Les travaux de Toure (2015) ont également permis de montrer que les huiles essentielles des plantes sont composées d'une multitude d'éléments chimiques avec des proportions variables en fonction des espèces végétales. Par ailleurs, plusieurs études ont permis de mettre en évidence différents niveaux d'efficacité d'huiles essentielles sur le contrôle *in vitro* ou *in vivo* de souches de microorganismes et/ou d'espèces d'insectes [4]. L'efficacité des huiles essentielles sur le contrôle des champignons dépendrait également du niveau de sensibilité des souches fongiques. En effet, au sein d'une même espèce de mycète ou de bactérie, on peut distinguer plusieurs souches, pathovars ou formes spéciales différentes sur leurs caractères morpho-anatomiques, physiologiques et/ou écologiques. Dans l'espèce *A. flavus*, beaucoup de souches ont pu être identifiées à partir de divers substrats en Afrique [x] (Ouattara-Sourabie *et al.*, 2011 ; Hissein *et al.*, 2019). Ces champignons sont capables de se développer à des températures comprises entre 10 et 45°C, la synthèse des aflatoxines, pour les souches aflatoxinogènes, n'intervenant qu'à des températures situées entre 20 et 35°C avec une humidité relative comprise entre 80 et 85% [5]. Toutefois, la vitesse de croissance mycélienne ainsi que la densité de sporulation peuvent significativement varier d'une souche d'*A. flavus* à une autre, sur un même milieu de culture (Faye *et al.*, 2021), imprégné ou non d'huile essentielle.

4. Conclusion

Cette étude consistait à tester l'efficacité de différentes concentrations des huiles essentielles de *Melaleuca leucadendra* et de *Callistemon viminalis* sur le contrôle *in vitro* d'une souche d'*Aspergillus flavus* isolée de graines d'arachide au Sénégal. Les résultats obtenus montrent que les taux d'inhibition de la croissance mycélienne et de la production de spores du champignon dépendent de l'huile essentielle et de la dose appliquée dans le milieu de culture. En effet, le traitement T5 (*Callistemon* 750

ppm) a permis d'obtenir les taux d'inhibition les plus élevés du développement de la souche fongique, sans différence significative avec le Mancozeb (500 ppm) utilisé dans cette étude comme traitement de référence (T9). Les différences d'efficacité notées entre les différents traitements testés trouveraient leur explication dans la composition chimique des 2 huiles essentielles et les doses inégales expérimentées pour chaque huile. Toutefois, des caractères intrinsèques de la souche fongique, de même que certains paramètres abiotiques d'expérimentation (température et humidité relative d'incubation) auraient également un impact sur l'efficacité des traitements.

5. Références

- [1] Doucouré F. (1999). Utilisation d'une souche mutante pour l'identification de variétés d'arachide tolérantes à *Aspergillus flavus* et à la production d'aflatoxines. Mém. CNRA Bambey 1008/99 SDI
- [2] P Martin, et al treating postnatal depression, New york, 1999.
- [3] Pane B Ouattara-Sourabie, Philippe A Nikiema, Alfred S Traore ; International Journal of Biological and Chemical Sciences ; 5(3) ; 2011
- El Ajjouri M., Ghanmi M., Satrani B., Amarti F., Rahouti M., Aafi A., Ismaili M. R. & Farah A. (2010). Composition chimique et activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. contre les champignons de pourriture du bois, *Acta Botanica Gallica*, 157:2, 285-294, DOI: 10.1080/12538078.2010.10516206
- [4] Fall R., Ngom S. , Samb A. et Sembène M. (2017). Activité insecticide par fumigation des huiles essentielles de *Callistemon viminalis*, *Melaleuca leucadendron* et *Hyptis suaveolens* contre *Sitophilus* spp., ravageur du maïs. *J. Soc. Ouest-Afr. Chim.* (2017) 043; 31 -36
- [5] Toure D. (2015). Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de Côte d'Ivoire. Thèse de Doctorat. Organic chemistry. Université Felix Houphouët Boigny, Côte d'Ivoire, French
- [x] Pane B Ouattara-Sourabie, Philippe A Nikiema, Alfred S Traore ; International Journal of Biological and Chemical Sciences ; 5(3) ; 2011

Avantages de l'application de la calcination et de l'acidulation partielle pour la solubilisation du phosphate naturel au Burkina Faso

Jacques SAWADOGO¹, Satoshi Nakamura², Boubacar TRAORE¹, Mamoudou TRAORE¹, Takashi KANDA², Fujio NAGUMO²

¹*Institut de l'Environnement et de Recherches Agricoles (INERA) / Burkina Faso,*

²*Japan International Research Center for Agricultural Sciences (JIRCAS)/ Japon*

Résumé

Le phosphate naturel (PN) est disponible en Afrique subsaharienne, mais il n'est pas pleinement utilisé en raison de sa faible solubilité et de sa teneur élevée en impuretés. L'objectif principal de ce travail est d'améliorer la solubilité du phosphate naturel de Kodjari (PNK) par calcination et par acidulation. Avant la calcination, un mélange de PNK et de carbonate de potassium, de carbonate de calcium et de carbonate de magnésium (CBKCa) a été chauffé à 950 °C pendant 10 minutes dans un four. Le PNK partiellement acidulé a été fabriqué avec 75% d'acide sulfurique (PARP75). L'effet de la calcination et de l'acidulation sur la solubilisation de PNK a été étudié. Les effets de l'application du CBKCa et du PAPR75 sur la production du sorgho et du niébé étaient comparables à ceux du TSP dans les expériences de terrain. Le CBKCa a montré une solubilité de près de 85 % dans une solution d'acide citrique (2 %), et de 11 % dans l'eau. Les résultats ont montré que le PNK partiellement acidulé avec 75% d'ajout d'acide sulfurique (PARP75) a induit une solubilité de 61% dans l'acide citrique (2%) et 13% dans l'eau. Les deux options de solubilisation du PN semblent applicables et efficaces pour le PNK au Burkina Faso. Des recherches supplémentaires pour prédire soutenabilité économique de ces procédés seraient intéressantes.

Mots-clés: Burkina Faso; calcination; acidulation; phosphate naturel

Advantages of application of calcination and partial acidulation technologies for solubilization of low-grade rock phosphate in Burkina Faso

Abstract

Rock phosphate (RP) is available in sub-Saharan Africa; however, it is not fully utilized due to its low solubility and high impurities content. The main objective of this work is to improve Kodjari phosphate rock (KPR) solubility by calcination and acidulation. Before calcining, a mixture of (KPR) plus potassium carbonate, calcium carbonate, magnesium carbonate (CBKCa) was heated up to 950 °C for 10 minutes by muffle furnace. Partially acidulated RP was making with 75% of sulfuric acid addition (PARP75). The effect of sulfuric acid addition onto solubilization of Kodjari RP was studied. Results showed that the effects of application of CBKCa and PAPR75 on sorghum and cowpea production were comparable with those of TSP in field experiments. CBKCa showed almost 85% solubility for citric acid solution (2%), and 11 % in water. Results showed that partially acidulated RP with 75% of sulfuric

acid addition (PARP75) induced 61 % solubility for 2% citric acid solution (2%) and 13% water solubility. Both rock phosphate solubilization processes options appear to be applicable and effective for KPR in Burkina Faso. Further research to predict the economic sustainability of these processes would be interesting.

Keywords: Burkina Faso; calcination; acidulation; Phosphate Rock

Introduction

La pauvreté des sols en phosphore est l'un des facteurs majeurs qui limitent la production agricole dans les pays d'Afrique subsaharienne. La carence des sols en phosphore trouve ses origines d'une part, dans la nature du substratum géologique et son évolution pour la formation, d'autre part dans la faible teneur en matière organique et l'épuisement des sols en raison des pratiques inadéquates telles que l'agriculture minière (Lompo *et al.*, 2007). La faible utilisation des engrais et des fumures organiques est considérée comme une cause principale à la faible performance des systèmes de production en Afrique de l'Ouest (Bwiza et Nduwayo, 2019). En raison du coût des engrais, les producteurs n'utilisent que de très faibles doses d'engrais par unité de surface. La mobilisation des ressources locales en vue d'une fabrication d'engrais localement à moindre coût occupe une place de choix dans les programmes de recherches.

Plusieurs pays d'Afrique sub saharienne disposent d'importantes réserves de phosphate naturel (PN) dont l'exploitation devrait permettre de réduire le coût des engrais. Cependant, l'utilisation directe du phosphate naturel particulièrement celui du Burkina Faso, est confrontée à d'énormes difficultés qui limitent son efficacité agronomique à savoir la faible solubilité, la faible teneur en P_2O_5 (26-32 %), la faible mobilité du phosphore et la présence d'éléments pénalisants (Fe_2O_3 , Al_2O_3) pour les sols (Soma *et al.*, 2017 ; Iwasaki *et al.*, 2022). Les alternatives visant à promouvoir une meilleure efficacité agronomique du phosphate naturel passent par l'amélioration de sa solubilisation par phospho-compostage (Hellal *et al.*, 2013), par des méthodes microbiologiques avec les micro-organismes solubilisateurs de phosphate et/ou les rhizobiums stimulateurs de la croissance des plantes (Sarr *et al.*, 2020 ; Tatiana *et al.*, 2021) ou par sulfuration (César *et al.*, 2020), par calcination à haute température (Nakamura *et al.*, 2015, 2019) par acidification partielle avec l'acide sulfurique ou l'acide phosphorique (Teles *et al.*, 2020). Chacune de ces stratégies présente des avantages et parfois des limitants non négligeables à considérer dans les choix de transformation du phosphate naturel. L'objectif principal de la présente étude est d'améliorer la solubilisation du phosphate naturel de Kodjari (PNK) par calcination et par acidulation partielle.

Méthodes

Processus de calcination

La calcination a consisté à porter le phosphate naturel à une température de 950°C à l'aide d'un four rotatif. Trois types de phosphate naturel calciné ont été produits en fonction du mélange initial effectué. Type1 (CB): mélange du PN (50 %) avec du carbonate de sodium (50%).

Type 2 (CBK): mélange du PN (50%) avec du carbonate de potassium (50%). Type 3 (CBKCa): mélange du PN (50%) avec le carbonate de calcium (25%), le carbonate de potassium (21%) et le carbonate de magnésium (4%). Chaque mélange a été homogénéisé avant d'être introduit au four. La température du four a été élevée progressivement pour atteindre 950°C au bout d'une heure avant de charger l'échantillon du mélange à l'intérieur progressivement. Le débit d'alimentation en phosphate est de 10 kg/h et le temps de séjour est de 10 minutes environ. La température de sortie du phosphate calciné est de 750° à 800°C. Après production, la solubilité du produit a été testée à l'acide citrique (2%). La proportion de phosphore total a été déterminée à l'auto-analyseur après une minéralisation de l'échantillon par la méthode Kjeldahl. Les performances agronomiques du phosphate produit (CBKCa) ont été comparées à celles du TSP dans une production de sorgho.

Processus d'acidulation

L'acidulation partielle a été effectuée avec l'acide sulfurique (H_2SO_4). Elle a consisté à un mélange de la poudre de phosphate naturel (PN) avec l'acide à une dose et une densité définies afin d'extraire le phosphore fixé dans les minerais à travers ses liaisons avec le fer, l'aluminium et le calcium. Pour cela, la solution d'acide sulfurique diluée (98%) a une densité de 1,22 a été préparée. L'acide sulfurique diluée additionné à 75 % avec le phosphate naturel a été introduit dans un malaxeur et laissé tourner à une vitesse de 30m/s. Le mélange est extrait après une heure et refroidi pendant 24 heures. Après refroidissement, le mélange est introduit dans l'étuve et séché durant 24 heures. Il est ensuite broyé à 0,7 mm pour obtenir une fine poudre qui représente l'engrais recherché. La solubilité du produit a été testée aussi à l'acide citrique (2%). En fonction du pourcentage d'acide utilisé dans le mélange, différents types de phosphate acidulé peuvent être produits. Le phosphore total a été dosé après minéralisation par la méthode Kjeldahl. Le phosphate acidulé (PAPR75) produit a été comparé au phosphate calciné et au phosphate naturel dans une production de niébé.

Résultats

Les analyses ont montré que la solubilité du phosphate naturel à augmenter de plus de 85 % avec les phosphates calcinés (CBK et CBKCa). De même, la teneur de phosphore total n'a pas diminué après calcination. Par ailleurs, cette solubilité a été confirmée par l'obtention d'un rendement grain comparable à celle de l'engrais soluble TSP dans la production du sorgho (Figure 2). Cette performance serait liée à l'amélioration de la disponibilité de phosphore dans le sol après apport du phosphate calciné par rapport au phosphate naturel brut. En effet, la libération du phosphore dans le sol est très lente avec le phosphate naturel brut. Quant à l'acidulation, elle a permis d'atteindre une solubilité de 60 %

comparativement au phosphate naturel brut. Cependant, on assiste à une diminution de la teneur de phosphore totale après acidulation. Cette diminution proviendrait des effets de l'acide sulfurique sur le phosphore en raison de la présence de carbonate dans le phosphate naturel. En effet, l'acidulation du phosphate naturel peut entraîner la production sulfate de calcium (CaSO_4) recouvrant parfois les particules de phosphore (Zapata et Roy, 2004).

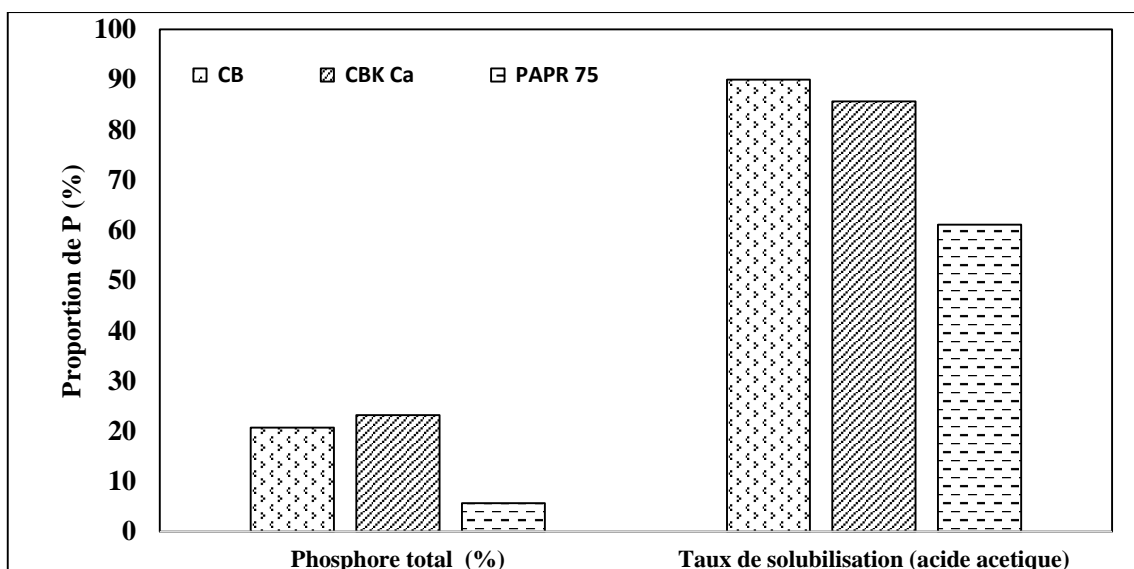


Figure 1 : Test de solubilisation dans l'acide acétique

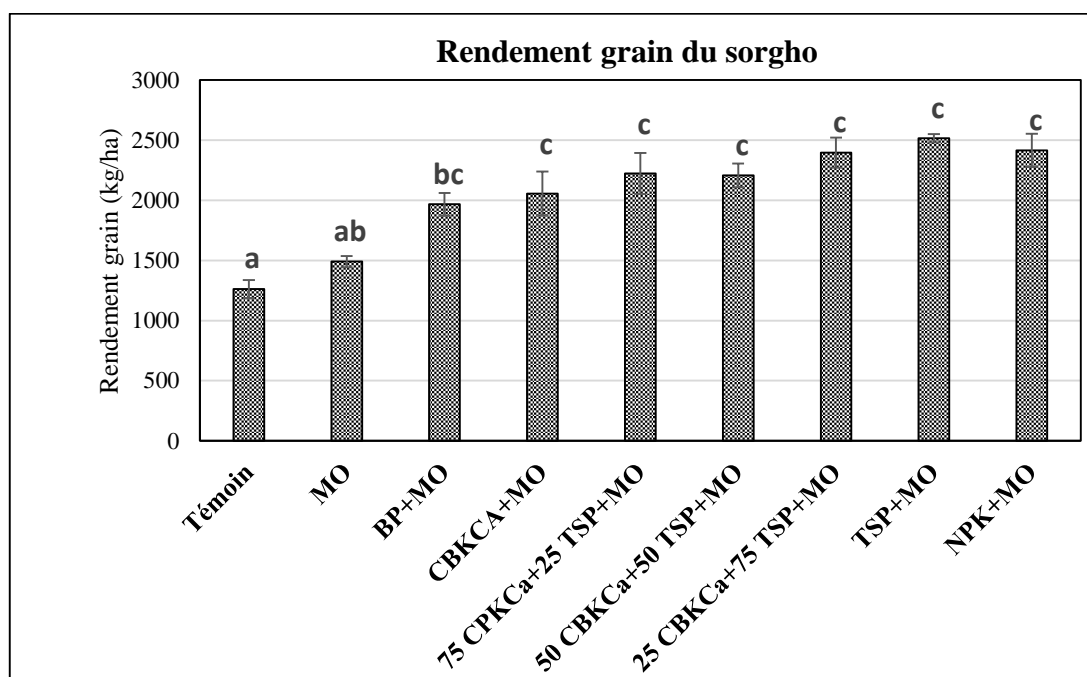


Figure 2 : effet du phosphate calciné sur le rendement du sorgho et du niébé

Légende : Les histogrammes portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différents.

Conclusion et perspectives

Cette étude visait à améliorer efficacement la solubilité du phosphate naturel du Burkina par les processus de calcination et d'acidulation. Il ressort que chacune de ces technologies concourt à augmenter la solubilité du phosphate naturel brute. Les études ont permis de montrer que le gain additionnel de rendement avec le phosphate calciné est plus élevé que celui du phosphate naturel brut. Les travaux futurs devraient permettre d'évaluer le cout de l'acidulation et de la calcination pour solubiliser le phosphate naturel.

Références

- Bwiza, F. R., et Nduwayo, M. I. (2019). Effets comparés de l'utilisation de NPK sur le sorgho entre zones pluvieuse et aride au Burkina Faso. *Annales de l'Unigom*, 9(1), 103–125.
- César, F. R. C. F., Muraoka, T., da Silva, R. C., et Souza-Filho, L. F. (2020). The agronomic benefit of phosphate rock application with elemental sulfur depends on the reactivity and fertilizer placement. *Journal of Plant Nutrition*, 0(0), 2773–2784. <https://doi.org/10.1080/01904167.2020.1793181>
- Hellal, F. A. A., Nagumo, F., et Zewainy, R. M. (2013). Influence of phosphocompost application on phosphorus availability and uptake by maize grown in red soil of Ishigaki Island, Japan. *Agricultural Sciences*, 04(02), 102–109. <https://doi.org/10.4236/as.2013.42016>
- Iwasaki, S., Ikazaki, K., Bougma, A., et Nagumo, F. (2022). Appropriate Use of Local Phosphate Rock Increases Phosphorus Use Efficiency and Grain Yield of Sorghum and Cowpea in the Sudan Savanna. *Frontiers in Soil Science*, 1(January), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fsoil.2021.709507>
- Lompo, F., Bonzi, M., Bado, B. V., Gnankambary, Z., Ouandaogo, N., Sedogo, M. P., et Yao-kouame, A. (2007). Effets des modes de gestion de la fertilité sur la solubilisation des phosphates naturels dans un lixisol en zone nord soudanienne du Burkina Faso Influence of soil fertility management options on rock phosphate. *Science et Technique*, 29(1), 37–55.
- Nakamura, S., Imai, T., Toriyama, K., Tobita, S., Matsunaga, R., Fukuda, M., et Nagumo, F. (2015). Solubilization of Burkina Faso phosphate rock through calcination method. *Japanese Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 86(6), 534–538. https://doi.org/10.20710/dojo.86.6_534
- Nakamura, S., Kanda, T., Imai, T., Sawadogo, J., et Nagumo, F. (2019). Solubility and application effects of African low-grade phosphate rock calcinated with potassium carbonate. *Soil Science and Plant Nutrition*, 65(3), 267–273. <https://doi.org/10.1080/00380768.2019.1598236>
- Sarr, P. S., Tibiri, E. B., et Fukuda, M. (2020). Phosphate-Solubilizing Fungi and Alkaline Phosphatase Trigger the P Solubilization During the Co-composting of Sorghum Straw Residues With Burkina Faso Phosphate Rock. 8(September), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2020.559195>
- Soma, D. M., Kiba, D. I., Gnankambary, Z., Ewusi-Mensah, N., Sanou, M., Nacro, H. B., Lompo, F., Sedogo, M. P., et Abaidoo, R. C. (2017). Effectiveness of combined application of Kodjari phosphate rock, water soluble phosphorus fertilizer and manure in a Ferric Lixisol in the centre west of Burkina Faso. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 64(3), 384–397. <https://doi.org/10.1080/03650340.2017.1353216>
- Teles, A. P. B., Rodrigues, M., et Pavinato, P. S. (2020). Solubility and efficiency of rock phosphate fertilizers partially acidulated with zeolite and pillared clay as additives. *Agronomy*, 10(7). <https://doi.org/10.3390/agronomy10070918>
- Zapata et Roy. (2004). Utilisation des phosphates naturels pour une agriculture durable. In FAO (Ed.), *Bulletin FAO engrais et nutrition végétale* (Bulletin F).176 p

Société Ouest Africaine de Chimie S.O.A.CHIM

Bénin, Burkina Faso, Côte d'Ivoire, Guinée (Conakry), Mali, Niger, Sénégal, Togo
Reconnue par récépissé n°96.008/MAT/SG/DGAT/DLPJ du 17.01.1996



SOACHIM 2022

Avec le soutien matériel et financier



Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique



Université Joseph KI-ZERBO



Fonds National de la Recherche et de l'Innovation pour le Développement



Fonds National pour l'Education et la Recherche



ECOLE POLYTECHNIQUE DE OUAGADOUGOU
L'excellence au service de la Nation



Programme d'Appui Stratégique à la Recherche Scientifique



Société Nationale Burkinabé des Hydrocarbures



Institut de Recherches en Sciences Appliquées et Technologies



Institut de Recherche en Science de la Santé



Institut de l'Environnement et de Recherche Agricole.



Institut des Sciences des Sociétés



Université Aube Nouvelle
Spes animae ancora est



INSTITUT AFRICAIN DE MANAGEMENT



CIM METAL SA